

2017 - TAKAUTUVAA ARVIOINTIA VARTEN ANNETUT TIEDOT

– julkaistaan tässä yhdessä hankkeiden yleistajuisen tiivistelmien kanssa. Hankeluvat ovat vuodelta 2014.

1

3. YLEISTAJUINEN TIIVISTELMÄ JULKAISTAVAKSI NETISSÄ: Täytettynä korkeintaan yhden sivun mittainen, ks. EU-komission ohje ja esimerkki.			
Hankkeen nimi	Syöpäkudosten ja metastaasien kuvantaminen		
Hankeluvan kesto	3 vuotta		
Avainsanat (enintään 5)	Syöpä, kuvantaminen		
Hankkeen tarkoitus	Perustutkimus	Kyllä	Ei
	Translaatio- tai soveltava tutkimus	Kyllä	Ei
	Lakisääteinen käyttö ja rutiinutuotanto	Kyllä	Ei
	Ympäristönsuojelu ihmisten tai eläinten terveyden tai hyvinvoinnin vuoksi	Kyllä	Ei
	Lajien säilyttäminen	Kyllä	Ei
	Korkeamman asteen koulutus tai ammattitaito-opetus	Kyllä	Ei
	Oikeuslääketieteelliset tutkimukset	Kyllä	Ei
	Geneettisesti muunnetun kolonian ylläpito	Kyllä	Ei
Hankkeen tavoitteet (esim. tieteellinen tieto jota haetaan taikka tieteelliset tai hoidolliset tarpeet)	Tämän projektin tarkoituksena on tutkia laboratoriomme kehittämiä fluoresoivia proteiineja, fluoresoivia biosensoreita, optogeneettisiä työkaluja ja muita geneettisesti koodattuja optisia leimoja eläinkudoksissa, kuten syöpä- ja kasvainkudoksissa.		
Hankkeesta saatava mahdollinen hyöty (kuinka tiede edistyisi, kuinka ihmiset tai eläimet voisivat hyötyä hankkeen tuloksista)	Uudet geneettisesti koodatut fluoresoivat leimat ja markerit, joita kehitämme ja seuloimme niiden kirkkauden, fotostabiiliuden, matalan toksisuuden ja muiden parametrien perusteella <i>in vivo</i> , tulevat tarjoamaan tärkeää uutta tietoa kasvainten kehityksestä, metastaaseista ja niihin liittyvistä muutoksista. Uskomme, että kehittämämme fluoresoivat leimat tulevat auttamaan tutkijoita löytämään uudenlaisia syöpämarkkereita, jotka auttavat saamaan lisää tietoa kasvainten kehityksestä ja kasvusta eläinmalleissa sekä kehittämään uusia syöpälääkkeitä.		
Käytettävät eläinlajit ja eläinmäärät	Hiiri, 400 eläintä		
Ennakoidut haitat eläimille, arvioidut vakavuusluokat, eläinten kohtalo toimenpiteen päätyttyä	Eläimelle aiheutuu haittaa kasvainsolujen annostelusta kohdekudokseen, kasvaimen kasvusta ja leviämisestä, tutkittavien aineiden annosteluista sekä kuvantamisista nukutuksineen. Kokeen jälkeen eläimet lopetetaan. Vakavuusluokka: Kohtalainen		
3R-menettelmien soveltaminen			
1. Korvaaminen Miksi eläimiä on käytettävä tässä hankkeessa ja miksi korvaavaa menetelmää ei voi käyttää?	Koe-eläinten käyttö syöpätutkimuksessa on välttämätöntä, sillä kasvaimet koostuvat syöpäsolujen lisäksi useista eri solutyypeistä, mistä johtuen syöpäsolujen vuorovaikutukset ympäristön kanssa ovat huomattavasti moninaisemmat kuin soluviljelyolosuhteissa. Tämän vuoksi syöpäsolut ovat usein rakenteeltaan ja proteiinikoostumukseltaan hyvinkin erilaisia kuin soluviljelyolosuhteissa kasvavat saman solulinjan syöpäsolut. Tukikudossoluilla, suonistolla ja mikroympäristöllä on siis merkittävä vaikutus syövän kehittymiseen ja etenemiseen ja näiden tekijöiden onnistunut jäljitteleminen soluviljelyolosuhteissa on nykytiedon puitteissa mahdotonta. Lääkeannostusten testaamista ei voi tehdä muuten kuin elävissä eläimissä. Lisäksi kuvantamisessa eläimen nahka ja kudokset, jotka ympäröivät kasvaimia ja metastaaseja, sisältävät melaniinia ja hemoglobiinia, jotka absorboivat huomattavasti valoa, mikä häiritsee merkittävästi <i>in vivo</i> -kuvantamista. Tästä johtuen meidän tulee käyttää soluviljelmien sijasta eläimiä, jotta voimme suunnitella tehokkaita optisia leimoja <i>in vivo</i> -käyttöön.		

2. Vähentäminen Kuinka on varmistettu, että eläimiä käytetään mahdollisimman vähän?	Tutkimuksessa identifioidaan ja karakterisoidaan fluoresoivia leimoja soluviljelmissä mahdollisimman paljon ennen eläinkokeisiin siirtymistä.
3. Parantaminen a - Perusteet eläinlajin valinnalle. b - Miksi valittu eläinmalli on paras tieteellisten tavoitteiden kannalta? c - Miten eläimille aiheutettu haitta on tarkoitus minimoida?	a. Näihin tutkimuksiin ei ole olemassa muita hyviä eläinmalleja. b. Hiirten fysiologia on samankaltainen ihmisen kanssa, joten tästä syystä hiiret ovat eniten käytetty vaihtoehto koe-eläimiksi syöpätutkimukseen. c. Kirurgiseen toimenpiteeseen liittyvästä kivunpoistosta on huolehdittu. Eläinten hyvinvoinnista huolehditaan seuraamalla niitä aktiivisesti kokeen aikana.

ELLA täyttää: Tehdäänkö hankkeesta takautuva arviointi? **KYLLÄ**

TIEDOT HANKKEEN TAKAUTUVAA ARVIOINTIA VARTEN

Saapumispvm: 13.9.2017.

ESAVI/EK 14.9.2017: Takautuva arviointi määrättiin, koska osaan kokeista liittyi paljon erilaisia käsittelyjä ja useita nukutuksia, minkä vuoksi vakavuusluokittelusta oli epävarmuutta. Suunniteltuja kokeita ei ole toteutettu. Takautuvaa arviointia ei ole tarpeen tehdä.

2

YLEISTAJUINEN TIIVISTELMÄ JULKAISTAVAKSI NETISSÄ: Tiivistelmä 35-2014			
Hankkeen nimi	Syövän kasvun, invasoitumisen ja metastasoitumisen säätely		
Hankeluvan kesto	3 vuotta		
Avainsanat (enintään 5)	syöpä, kasvain, etäpesäke		
Hankkeen tarkoitus	Perustutkimus	Kyllä	Ei
	Translaatio- tai soveltava tutkimus	Kyllä	Ei
	Lakisäätöinen käyttö ja rutiinituotanto	Kyllä	Ei
	Ympäristönsuojelu ihmisten tai eläinten terveyden tai hyvinvoinnin vuoksi	Kyllä	Ei
	Lajien säilyttäminen	Kyllä	Ei
	Korkeamman asteen koulutus tai ammattitaito-opetus	Kyllä	Ei
	Oikeuslääketieteelliset tutkimukset	Kyllä	Ei
	Geneettisesti muunnetun kolonian ylläpito	Kyllä	Ei
Hankkeen tavoitteet (esim. tieteellinen tieto jota haetaan taikka tieteelliset tai hoidolliset tarpeet)	Tutkimuksessa selvitetään syövän kasvun ja leviämisen mekanismeja, jotka tunnetaan edelleen puutteellisesti. Luuhun tai muihin kudoksiin levinnyt syöpäsairaus on hengenvaarallinen eikä sitä pystytä tällä hetkellä parantamaan. Lisäksi hankkeessa testataan uusien lääkeaihioiden tehokkuutta syövän hoidossa.		
Hankkeesta saatava mahdollinen hyöty (kuinka tiede edistyisi, kuinka ihmiset tai eläimet voisivat hyötyä hankkeen tuloksista)	Syöpään sairastuu elämänsä aikana joka neljäs suomalainen. Jos syöpätautien etenemismekanismit tunnettaisiin paremmin, voitaisiin kehittää uusia lääkekehityskohteita sekä ennusteellisia ja diagnostisia määrittämenetelmiä ja sitä kautta vaikuttaa suoraan syöpäpotilaiden ja heidän omaistensa hyvinvointiin. Uusien lääkeaihioiden tehon testaaminen tarkoituksenmukaisissa eläinmalleissa on olennainen osa lääkekehitystä.		
Käytettävät eläinlajit ja eläinmäärät	Hiiri, 3000 eläintä		

Ennakoidut haitat eläimille, arvioidut vakavuusluokat, eläinten kohtalo toimenpiteen päätyttyä	Eläimille aiheutuu haittaa kirurgisista toimenpiteistä (esim. syöpäsolujen istutus eturauhaseen) sekä itse kasvainmalleista. Metastaasien muodostuttua esim. luuhun eläin saattaa tuntea kipua. Kipua lääkitään kipulääkkeillä ja eläin lopetetaan, jos lopetuskriteerit täyttyvät. Vakavuusluokat: vakava		
3R-menetelmien soveltaminen	Application of the 3Rs		
1. Korvaaminen Miksi eläimiä on käytettävä tässä hankkeessa ja miksi korvaavaa menetelmää ei voi käyttää?	1. Replacement Syöpää voidaan tutkia rajoitetusti soluviljely- ja kudosisviljelykokeilla, mutta kasvaimen kasvua ja etäpesäkkeiden muodostumista voidaan mallintaa vain nisäkkäillä.		
2. Vähentäminen Kuinka on varmistettu, että eläimiä käytetään mahdollisimman vähän?	2. Reduction Eläinkokeen suunnitteluvaiheessa tehdään tilastolliset laskelmat siitä mikä on pienin mahdollinen eläinmäärä/ryhmä. Biologisen varianssin takia pienin eläinmäärä vaihtelee käytettävän mallin mukaan ja on yleensä 6-15 eläintä/ryhmä.		
3. Parantaminen a) Perusteet eläinlajin valinnalle. b) Miksi valittu eläinmalli on paras tieteellisten tavoitteiden kannalta? c) Miten eläimille aiheutettu haitta on tarkoitus minimoida?	3. Refinement Hiiren ja ihmisen elimistöt koostuvat histologisesti hyvin samantapaisista kudoksista. Tavoitteemme on tutkia ihmisen syöpää ja löytää siihen hoitoja. Käyttämällä immunopuutteista hiirtä koe-eläimenä, voimme mallintaa erilaisia primaarikasvaimia ja niiden etäpesäkkeitä hiiressä. Hiirelle ei tavallisesti kehity syöpää spontaanisti ja käyttämällä hiirtä mallina, saamme vastauksia spesifeihin kysymyksiin. Tulokset ovat suoraan sovellettavissa syöpäpotilaiden hoitoon. Käyttämällä immunokompetentteja hiiriä, voimme tutkia immunologian ja syövän yhteyttä. Kaikissa osakokeissa eläinten hyvinvointia seurataan päivittäin. Tarvittaessa eläimille annetaan kipulääkettä. Mikäli lopetuskriteerit täyttyvät, eläin lopetetaan välittömästi. Eläin lopetetaan kokeen loppuessa.		
ELLA täyttää: Tehdäänkö hankkeesta takautuva arviointi?	KYLLÄ	EI	
	x		

TIEDOT HANKKEEN TAKAUTUVAA ARVIOINTIA VARTEN

Saapumispvm: 29.7.2017, 2.versio 22.8.2017.

1. Hankkeen tavoitteet ja arvio siitä, miten hyvin ne saavutettiin

Tutkimuksessa selvitetään syövän kasvun ja leviämisen mekanismeja, jotka tunnetaan edelleen puutteellisesti. Luuhun tai muihin kudoksiin levinnyt syöpäsairaus on hengenvaarallinen eikä sitä pystytä tällä hetkellä parantamaan. Lisäksi hankkeessa testataan uusien lääkaihioiden tehokkuutta syövän hoidossa.

Hankkeessa on toteutettu yhteensä 29 tutkimusta, joissa on tutkittu 17 mahdollisen uuden syöpälääkkeen tehokkuutta ja vaikutusmekanismia metastasoituneessa syövässä. Tutkimukset olivat onnistuneita, sillä niistä saatiin selkeät ja luotettavat tulokset. Lisäksi on tehty 3 tutkimusta, jotka ovat tähänneet 3R-periaatteiden mukaiseen mallien ja mittausmenetelmien parantamiseen, jotka vähentäisivät eläinmäärää ja eläinten kokemaa haittaa.

2. Tiedot hankkeessa käytettyjen eläinten lajeista ja määrästä sekä tehtyjen toimenpiteiden tosiasiallisesta vakavuudesta

Luvassa oli 3000 hiirtä vakavuusluokalle vakava, josta 1787 hiirtä käytetty. Lopullisessa vakavuusluokassa vakava oli 76 hiirtä, kohtalainen 938 hiirtä, lievä 731 hiirtä. Lisäksi luokkaan ei haittaa kuului 42 hiirtä. Yksityiskohtaisemmin esitetty taulukossa 1.

3. Seikat, jotka hankkeessa saatujen kokemusten peursteella saattaisivat edistää korvaamisen, vähentämisen ja parantamisen (3R) periaatteen toteuttamista

Estrogeenilisällä on haitallisia vaikutuksia hiiriin, mutta sen käyttäminen on välttämätöntä kun tutkitaan ihmisen estrogeeni-riippuvaisia syöpiä. Kokeilimme eri hiirikantoja selvittääksemme, ovatko havaitut haitalliset vaikutukset samanlaisia kaikissa kannoissa. Havaitimme että NOG-hiirikannalle ei tullut minkäänlaisia haittavaikutuksia estrogeenilisästä. Vastaisuudessa käytämme NOG-hiiriä kokeissa, joissa tarvitaan estrogeenilisää, jos se vain on mahdollista. Tulokset julkaistiin myös kahdessa kansainvälisessä kokouksessa, toisessa posteresityksenä (American Association for Cancer Research Annual Meeting 2017) ja toisessa oraaliesityksenä (ScandLAS 2017).

Koska NOG-hiiret kestävät huonosti säteilyä, niitä ei ole mahdollista käyttää kokeissa joissa testattavana on radioterapeuttinen aine. Tämän johdosta testasimme myös Rag2 knock-out (R2G2, Envigo) hiirillä estrogeenilisän sietoa. Nämä hiiret eivät ole normaalia herkempiä säteilylle. Valitettavasti tällä hiirikannalla haittoja havaittiin.

Olemme yrittäneet mitata hiiren sääriluussa kasvavan syövän aiheuttamia hermostollisia oireita ja/tai kipua käyttämällä Catwalk-laitetta (Noldus Inc.), jossa hiiri kävelee lasilevyn päällä noin metrin matkan. Laite kuvaa kävelyn ja jalanjäljet, ja laskee sitten useita parametreja, jotka kuvastavat mm. painon jakautumista eri raajoille. Toistaiseksi tulokset eivät ole olleet niin selkeitä, että menetelmä olisi voitu ottaa käyttöön luuetäpesäkkeiden kivun mittauksessa. Hyöty olisi todennäköinen myös sydämen ja häntälaskimon kautta istutettavissa, luuhun hakeutuvissa syöpämalleissa.

Taulukko 1.

Osahanke / Toimenpide	Eläinlaji	Eläinmäärä: Luvassa arvioitu: 3000 . Tosiasiallinen	Vakavuusluokka: Luvassa arvioitu: Vakava. Tosiasiallinen	Erityistä aiheutettuun haittaan liittyen: esim. satunnainen / toistuva, saatu vähenemään / loppumaan 3R-keinoin	3R-keinot: miten eläinmääriä on voitu vähentää tai eläinten hyvinvointia parantaa
Syöpäsolujen istutus eturauhaseen	hiiri	53	Vakava 4 Kohtalainen 49	Joitakin eläimiä jouduttiin lopettamaan kesken tutkimuksen, koska niille kehittyi virtsaumpi syöpäsolujen levitessä eturauhasessa, tai kasvaessa väärässä paikassa. Kohtalainen haitta aiheutuu invasiivisesta kirurgisesta operaatiosta soluja pistettäessä.	
Istutus haimaan	hiiri	40	Lievä 40	-	
Istutus häntälaskimon kautta	hiiri	379	Vakava 14 Kohtalainen 160 Lievä 205	Erään yhdisteen ip annosteluliuksen pH-säätö oli hyvin vaativaa, ja eläimiä löytyi kuolleena, kun säätö ei yhden kerran ollut onnistunut. Tästä johtuen vaihdettiin ko. aineen formulaatio ja annostelureitti oraaliseksi. Kohtalaisia haittoja olivat tuumorin aiheuttama painonlasku (alle 20%) joka esiintyi melko säännöllisesti, sekä satunnaisesti esiintynyt hermostollinen oire, hiukan ”hyppelehtivä” kävely, joka edeltää suurempaa toimintavajetta raajassa. Tätä on kuitenkin vaikea havainnoida, eikä se ole luotettava päätepiste kokeelle myöskään siitä syystä että se voi tulla ja mennä. Heti kun joku raaja tai häntä halvaantui, eläin lopetettiin välittömästi. Eläimiä tarkkailtiin kokeen lopussa kahdesti päivässä ja niillä oli kipulääkitys.	
Istutus sydämen vasemman kammion kautta	hiiri	285	Vakava 3 Kohtalainen 190 Lievä 92	Vakavat haitat liittyivät epäonnistuneeseen po-annosteluun. Annostelijoiden harjaantumiseen ja	

				<p>muovisondien tiheämpään vaihtamiseen kiinnitettiin enemmän huomiota. Metallisondia ei käytetä. Kohtalaiset haitat ovat melko säännöllistä painonlaskua sekä satunnaisia halvaantumisoireita, jotka johtuvat tuumorin kasvusta luustossa. Kipulääkettä aletaan antaa kokeen lopussa samoihin aikoihin kun painonlasku alkaa, ja halvaantuneet eläimet lopetetaan samana päivänä.</p>	
Istutus sääriluuhun	hiiri	826	<p>Vakava 45 Kohtalainen 539 Lievä 242</p>	<p>Testiaineeseen on kahdesti liittynyt odottamattomia haittoja, jotka johtivat painonlaskuun ja sen takia eutanasiaan. Joitakin eläimiä löytyi kuolleena. Kerran tämä johtui laimennosvirheestä ja kerran hiirikannan yllättävästä herkkyydestä testiaineelle meidän laboratoriossamme, vaikka asiakkaalla oli toksisuusdataa samalla hiirikannalla tehtynä. Annosta laskemalla haitat hävisivät. Myös tarkkailua tihennettiin. Kohtalainen haitta aiheutuu todennetusta syöpäkasvaimesta luussa, joka aiheuttaa painonlaskua (alle 20%). Se ei vaikuta liikkumiseen, ja eläimet saavat kipulääkettä kokeen loppuvaiheessa, samoihin aikoihin kun painonlasku yleensä alkaa. Lievää haittaa kokevat eläimet ovat niitä, joille tauti ei kehittynyt, ja joita ei sen takia koskaan annosteltu. Joukossa on myös niitä, joihin lääkitys on tehonnut todella hyvin eikä ole mitään merkkiä taudista.</p>	<p>Olemme yrittäneet mitata hiiren sääriluussa kasvavan syövän aiheuttamia hermostollisia oireita ja/tai kipua käyttämällä Catwalk-laitetta (Noldus Inc.), jossa hiiri kävelee lasilevyn päällä noin metrin matkan. Laite kuvaa kävelyn ja jalanjäljet, ja laskee sitten useita parametreja, jotka kuvastavat mm. painon jakautumista eri raajoille. Toistaiseksi tulokset eivät ole olleet niin selkeitä, että menetelmä olisi voitu ottaa käyttöön luuetäpesäkkeiden kivun mittauksessa.</p> <p>Eläinten määrää on vähennetty käyttämällä aina kun mahdollista lusiferaasilla leimattua solulinjaa, jolloin tuumorin kasvu voidaan todeta suuremmalla prosentilla eläimistä kuin röntgenkuvan perusteella, ja ne voidaan ottaa mukaan annosteltaviin ryhmiin.</p>
Istutus munuaiseen	hiiri	0			
Istutus rakkoon	hiiri	0			

Istutus rintarauhaseen	hiiri	162	Vakava 10 Lievä 152	Kun on tarpeen käyttää estrogeenilisää, noin puolella nude-hiiristä ilmenee virtsakiviä ja/tai virtsan pidätysongelmia, jotka johtavat genitaalialueen ihon ärsytykseen ja jopa rikkoutumiseen. Vakavien oireiden takia eläin lopetetaan.	Estrogeenilisen annostelumuotoa koitettiin vaihtaa, mutta haittavaikutukset olivat samanlaiset riippumatta annostelureitistä. Kokeilimme eri hiirikantoja selvittääksemme, ovatko havaitut haitalliset vaikutukset samanlaisia kaikissa kannoissa. Havaitimme että NOG-hiirikannalle ei tullut minkäänlaisia haittavaikutuksia estrogeenilisästä. Vastaisuudessa käytämme NOG-hiiriä kokeissa, joissa tarvitaan estrogeenilisää, jos se vain on mahdollista. Koska NOG-hiiret kestävät huonosti säteilyä, niitä ei ole mahdollista käyttää kokeissa joissa testattavana on radioterapeuttinen aine. Tämän johdosta testasimme myös Rag2 knock-out (R2G2, Envigo) hiirillä estrogeenilisen sietoa. Nämä hiiret eivät ole normaalia herkempiä säteilylle. Valitettavasti tällä hiirikannalla haittoja havaittiin.
Syöpäsolujen uudelleenistutus	hiiri	0			

YLEISTAJUINEN TIIVISTELMÄ JULKAISTAVAKSI NETISSÄ: Tiivistelmä 51-2014			
Hankkeen nimi	Syövän kasvun, invasoitumisen ja metastasoitumisen säätely		
Hankeluvan kesto	3 vuotta		
Avainsanat (enintään 5)	syöpä, kasvain, etäpesäke		
Hankkeen tarkoitus	Perustutkimus	<u>Kyllä</u>	Ei
	Translaatio- tai soveltava tutkimus	<u>Kyllä</u>	Ei
	Lakisääteinen käyttö ja rutiinituotanto	Kyllä	<u>Ei</u>
	Ympäristönsuojelu ihmisten tai eläinten terveyden tai hyvinvoinnin vuoksi	Kyllä	<u>Ei</u>
	Lajien säilyttäminen	Kyllä	<u>Ei</u>
	Korkeamman asteen koulutus tai ammattitaito-opetus	Kyllä	<u>Ei</u>
	Oikeuslääketieteelliset tutkimukset	Kyllä	<u>Ei</u>
	Geneettisesti muunnetun kolonian ylläpito	Kyllä	<u>Ei</u>
Hankkeen tavoitteet (esim. tieteellinen tieto jota haetaan taikka tieteelliset tai hoidolliset tarpeet)	Tutkimuksessa selvitetään syövän kasvun ja leviämisen mekanismeja, jotka tunnetaan edelleen puutteellisesti. Luuhun tai muihin kudoksiin levinnyt syöpäsairaus on hengenvaarallinen eikä sitä pystytä tällä hetkellä parantamaan. Lisäksi hankkeessa testataan uusien lääkeaihioiden tehokkuutta syövän hoidossa.		
Hankkeesta saatava mahdollinen hyöty (kuinka tiede edistyisi, kuinka ihmiset tai eläimet voisivat hyötyä hankkeen tuloksista)	Syöpään sairastuu elämänsä aikana joka neljäs suomalainen. Jos syöpätautien etenemismekanismit tunnettaisiin paremmin, voitaisiin kehittää uusia lääkekehityskohteita sekä ennusteellisia ja diagnostisia määrittämenetelmiä ja sitä kautta vaikuttaa suoraan syöpäpotilaiden ja heidän omaistensa hyvinvointiin. Uusien lääkeaihioiden tehon testaaminen tarkoituksenmukaisissa eläinmalleissa on olennainen osa lääkekehitystä.		
Käytettävät eläinlajit ja eläinmäärät	Hiiri, 500 eläintä		
Ennakoidut haitat eläimille, arvioidut vakavuusluokat, eläinten kohtalo toimenpiteen päätyttyä	Osalle eläimistä tehdään kirurgisia toimenpiteitä (esim. syöpäsolujen istutus eturauhaseen). Osa malleista on metastaasimalleja. Metastaasien muodostuttua esim. luuhun, eläin saattaa tuntea kipua. Kipua lääkitään kipulääkkeillä ja eläin lopetetaan, jos lopetuskriteerit täyttyvät. Kokeen päätyttyä eläimet lopetetaan. Vakavuusluokat: vakava		
3R-menettelmien soveltaminen	Application of the 3Rs		
1. Korvaaminen Miksi eläimiä on käytettävä tässä hankkeessa ja miksi korvaavaa menetelmää ei voi käyttää?	1. Replacement Syöpää voidaan tutkia rajoitetusti soluviljely- ja kudosisviljelykokeilla, mutta kasvaimen kasvua ja etäpesäkkeiden muodostumista voidaan mallintaa vain nisäkkäillä.		
2. Vähentäminen	2. Reduction		

Kuinka on varmistettu, että eläimiä käytetään mahdollisimman vähän?	Eläinkokeen suunnitteluvaiheessa tehdään tilastolliset laskelmat siitä mikä on pienin mahdollinen eläinmäärä/ryhmä. Biologisen varianssin takia pienin eläinmäärä vaihtelee käytettävän mallin mukaan ja on yleensä 6-15 eläintä/ryhmä.
3. Parantaminen a) Perusteet eläinlajin valinnalle. b) Miksi valittu eläinmalli on paras tieteellisten tavoitteiden kannalta? c) Miten eläimille aiheutettu haitta on tarkoitus minimoida?	3. Refinement Hiiren ja ihmisen elimistöt koostuvat histologisesti hyvin samantapaisista kudoksista. Tavoitteemme on tutkia ihmisen syöpää ja löytää siihen hoitoja. Käyttämällä immunopuutteista hiirtä koe-eläimenä, voimme mallintaa erilaisia primaarikasvaimia ja niiden etäpesäkkeitä hiiressä. Hiirelle ei tavallisesti kehity syöpää spontaanisti ja käyttämällä hiirtä mallina, saamme vastauksia spesifeihin kysymyksiin. Tulokset ovat sovellettavissa syöpäpotilaiden hoitoon. Käyttämällä immunokompetentteja hiiriä (esim. Balb/c ja 4T1 hiiren rintasyöpäsolut), voimme tutkia immunologian ja syövän yhteyttä. Kaikissa osakokeissa eläinten hyvinvointia seurataan päivittäin. Tarvittaessa eläimille annetaan kipulääkettä. Mikäli lopetuskriteerit täyttyvät, eläin lopetetaan välittömästi. Eläin lopetetaan kokeen loppuessa.

TIEDOT HANKKEEN TAKAUTUVAA ARVIOINTIA VARTEN & ARVIOINTI

Saapumispvm: 13.7.2017

1. Hankkeen tavoitteiden saavuttaminen

Tavoitteena oli:

Tutkimuksessa selvitetään syövän kasvun ja leviämisen mekanismeja, jotka tunnetaan edelleen puutteellisesti. Luuhun tai muihin kudoksiin levinnyt syöpäsairaus on hengenvaarallinen eikä sitä pystytä tällä hetkellä parantamaan. Lisäksi hankkeessa testataan uusien lääkeaihioiden tehokkuutta syövän hoidossa.

Kokeet onnistuivat hyvin ja niiden avulla saavutettiin uutta syöpäbiologista tietoa, jolla on toivottavasti myöhemmin myös kliinistä merkitystä.

2. Millaista haittaa

Arvioimme hankelupaa hakiessa vakavuusluokan suuremmaksi kuin se todellisuudessa oli.

Kokeessa käytettiin tavoitekasvatettuja eläimiä ja niitä tilattiin vain sen verran, kuin kokeessa tarvittiin. Näin ollen arvio eläinmäärästä oli täsmällinen. Poikkeuksena tähän olivat PDX-kokeet, joissa käytetään potilasmateriaalia. PDX-kokeita varten joudumme tilaamaan eläimet etukäteen, koska päätös kudoksen käyttämisessä kokeeseen tehdään tunneissa, eläinten tilaaminen kestää karanteeneineen vähintään 2 viikkoa.

Arvioitu vakavuusluokka	Kuvaus	Eläinlaji	Eläimiä (kpl)
Lievä	ihonalaisia kasvaimia, uusi PET merkkiaine	Hiiri: Balb/c nude, naaras	55
Lievä	ihonalaisia kasvaimia, sädehoito	Hiiri: Balb/c nude, naaras	40
Kohtalainen	kasvaimia luussa, uusi lääkeaine	Hiiri: Balb/c nude, naaras	20
Lievä	kasvaimia prostatassa, kasvukäyrät	Hiiri: Balb/c nude, koiras	20
Lievä	personoidun lääkehoitomallin kehitys	Hiiri: hairless NOD.SCID, uros	6
Lievä	opetus	Hiiri: Balb/c uros ja naaras	20

Yhteenveto:

Eläimiä yhteensä	161
Tilattu tälle luvalle	161
Siirretty edelliseltä luvulta	0
Siirretty seuraavalle luvalle	6
Lopetettu suunnitellusti	155

Kuollut odottamatta	0
Vakavuusluokka lievä	121
Vakavuusluokka kohtalainen	40
Vakavuusluokka vakava	0

3. 3R-mahdollisuudet

Hankkeessa JT-02 koe ajoitettiin niin, että samat hiiret voitiin PET-kuvata kahdella eri merkkiaineella. Näin eläinmäärää saatiin 50% pienemmäksi.

Hankkeessa MFM23 käytettiin "catwalk"-laitetta, jossa eläinten hyvinvointia arvioidaan niiden kävelyn analyysin perusteella. Mittaus on hiirille kivuton.

Käytössä oli leimatut solut (hanke PC-3Mluc), joka helpotti kasvainten kasvukäyrän määrittystä. Tällöin tarvittava eläinmäärä kokeessa pieneni 50%.

4

YLEISTAJUINEN TIIVISTELMÄ JULKAISTAVAKSI NETISSÄ: Tiivistelmä 63-2014			
Hankkeen nimi	Pitkittyneen valveen seuraukset: homeostaattinen säätely ja terveysvaikutukset		
Hankeluvan kesto	3 vuotta		
Avainsanat (enintään 5)	Uni, unen puute, metabolia, immuunivaste, vuorokausirytm		
Hankkeen tarkoitus	Perustutkimus	<u>Kyllä</u>	Ei
	Translaatio- tai soveltava tutkimus	Kyllä	<u>Ei</u>
	Lakisääteinen käyttö ja rutiinituotanto	Kyllä	<u>Ei</u>
	Ympäristönsuojelu ihmisten tai eläinten terveyden tai hyvinvoinnin vuoksi	Kyllä	<u>Ei</u>
	Lajien säilyttäminen	Kyllä	<u>Ei</u>
	Korkeamman asteen koulutus tai ammattitaito-opetus	Kyllä	<u>Ei</u>
	Oikeuslääketieteelliset tutkimukset	Kyllä	<u>Ei</u>
	Geneettisesti muunnetun kolonian ylläpito	Kyllä	<u>Ei</u>
Hankkeen tavoitteet (esim. tieteellinen tieto jota haetaan taikka tieteelliset tai hoidolliset tarpeet)	Hankkeen tarkoituksena on tuottaa tietoa unen homeostaattisen säätelyn molekyyllitasoisista mekanismeista sekä selvittää mekanismeja, joilla unen puute altistaa monille sairauksille (mm. valtimokovettumatauti ja tyyppi 2 diabetes).		
Hankkeesta saatava mahdollinen hyöty (kuinka tiede edistyisi, kuinka ihmiset tai eläimet voisivat hyötyä hankkeen tuloksista)	Tutkimuksen tuloksia voidaan käyttää sairauksien ennaltaehkäisyyn. Sen pohjalta voidaan kehittää myös vähemmän haitallisia työaikajärjestelyjä mm. vuorotyöhön ja kouluun. Molekyyllitason tutkimus voi myös identifioida molekyyliä, joita voidaan käyttää lääkeainekehittelyn pohjana.		
Käytettävät eläinlajit ja eläinmäärät	Rotat 830 kpl, rotan poikaset 240, hiiret 210, seeprakalan ruskuaispussipoikaset 4800, seeprakalat 400.		
Ennakoidut haitat eläimille, arvioidut vakavuusluokat, eläinten kohtalo toimenpiteen päätyttyä	Osassa kokeita jyrksijöille asetetaan nukutuksessa kalloon kiinnitetyt elektrodit ja ohjauskanyyli, josta saattaa seurata toipumisongelmia. Operointiin liittyy aina kivunlievitys ja toipumista seurataan huolella. REM-unen esto pitämällä rotat maksimissaan 12 tuntia hyvin pienellä alustalla häiritsee eläinten normaalia unta. Tilapäinen hajuaistin tuhoaminen voi aiheuttaa eläimille masennusoireita. Vuorokausirytmien muutos pitkäaikaisena voi häiritä eläinten normaalia elämää. Vakavuusluokat: Lievä, kohtalainen, vakava		
3R-menettelmien soveltaminen	Application of the 3Rs		
1. Korvaaminen	1. Replacement		

Miksi eläimiä on käytettävä tässä hankkeessa ja miksi korvaavaa menetelmää ei voi käyttää?	Uni on kehittyneille aivoille tyypillinen tila eikä sitä voi määrittää yksittäisistä soluista – tarvitaan hermoverkkoja. Näin ollen esim. soluviljelmiä ei voida käyttää kokeissamme muutoin kuin täydentävinä menetelminä.	
2. Vähentäminen Kuinka on varmistettu, että eläimiä käytetään mahdollisimman vähän?	2. Reduction Suoritamme jokaiselle kokeelle tilastollisen voimalaskelman, jonka perusteella päätetään mikä on minimimäärä kokeeseen osallistujia, jotta tuloksia voidaan pitää tilastollisesti merkittävinä.	
3. Parantaminen a) Perusteet eläinlajin valinnalle. b) Miksi valittu eläinmalli on paras tieteellisten tavoitteiden kannalta? c) Miten eläimille aiheutettu haitta on tarkoitus minimoida?	3. Refinement a) valitsimme kehitysasteeltaan mahdollisimman alhaisen lajin kaikkiin kokeisiin: vain jos koetta ei ole mielekästä tehdä kalan ruskuaispussi-poikasilla, teemme sen jyrksijöillä. b) käytämme selkärankaisia, joilla evoluutio muistuttaa mahdollisimman paljon ihmistä. Näin varmistetaan, että esim. aineenvaihdunta mahdollisimman pitkälle muistuttaa ihmistä. On myös tärkeää vertailla tuloksia eri lajien välillä. c) käytämme mahdollisimman lyhyitä unenestokokeita ja estämme unta ainoastaan lajityypillisillä ärsykeillä. Leikkauksissa kiinnitetään erityistä huomiota riittävään toipumisaikaan ja kivun lievitykseen.	
ELLA täyttää: Tehdäänkö hankkeesta takautuva arviointi?	KYLLÄ	EI
	X	

TIEDOT HANKEEN TAKAUTUVAA ARVIINTIA VARTEN & ARVIINTI

Saapumispvm: 11.9.2017, Lisätiedot 2.10.2017.

1. Hankkeen tavoitteiden saavuttaminen

Tutkimuksen tarkoituksena on selvittää pitkittyneen valveen vaikutuksia molekyyli- ja solutasolla. Osahankkeessa 1 tutkittiin mitkä säätelytekijät osallistuvat korvausunen syntyyn, mukaan lukien kudostekijät (esim. BDNF) ja vuorokausirytmien säätelyyn liittyvät tekijät. Kokeissa käytettiin sekä hiiriä että rottia. Eläinmallit sopivat tutkimukseen. Kokeiden onnistumista kuvannee se, että niistä on julkaistu toistaiseksi viisi julkaisua, ja ainakin neljä on kirjoitusvaiheessa. Osahankkeessa 2 tutkittiin varhaisen kehityksen vaikutusta uneen ja depressioon ja validoitiin uusi eläinmalli (rotta) juuri tähän tutkimukseen sopivaksi. Tutkimuksen tulokset on julkaistu toistaiseksi yhdessä julkaisussa. Osahankkeessa käytettiin vain rottia. Osahankkeessa kolme tutkittiin erityisesti immuunijärjestelmän ja unen välisiä yhteyksiä. Tässä suuntauduimme hieman uudelleen siirtyen pääasiallisesta rottien käytöstä hiirien käyttöön. Kokeet ovat osittain kesken, joten tästä osaprojektista ei ole vielä ole julkaisuja. Osaprojektissa 4 kehitettiin unitutkimukseen soveltuva seeprakalan toukkamalli. Kehitystyö onnistui hyvin, ja malli on julkaistu tieteellisenä julkaisuna. Muutosluvalla toteutetussa kokeessa saavutettiin sille asetettu tieteellinen tavoite.

2. Millaista haittaa?

Haitta-arviot perustuvat aiempiin kokemuksiin eikä työn aikana ilmennyt tarvetta muuttaa niitä. Olemme käyttäneet luvassa kuvattuja toimenpiteitä useiden vuosien ajan, eikä mitään yllättävää ilmennyt. Tämän kauden aikana eläimiä ei jouduttu lopettamaan lopetuskriteerien perusteella kertaakaan. Yksi hiiri oli kuollut kuljetuksessa Hollannista Helsinkiin ja yksi hiiri oli löytynyt kuolleena häkistä – syy kuolemaan ei selvinnyt. Myös anestesiaan menehtyi joitakin rottia (alle viisi).

Muutosluvalla myönnetty lupa REM-unen estolle 72 tuntia: Ennen kokeen alkua eläimet totutettiin koeympäristöön ilman vettä. Lupapäätöksen suosituksista toteutettiin veden lämmitys sekä ylimääräinen ruukku ja suojaverkon kiipeilyominaisuudet, jotka ovat kuuluneet tutkimusprotokollaan jo ennestään. Suositeltua REM-unen eston lyhentämistä 48 tuntiin ei toteutettu, koska on runsaasti näyttöä sekä omista että muissa laboratorioissa suoritetuista kokeista, että 72 tuntia on minimiaika

ennen kuin eston biologisia vaikutuksia havaitaan.

Kokeen aikana seurattiin ravinnon ja veden kulutusta. Niissä ei havaittu muutoksia missään tutkitussa ryhmässä. Emme myöskään havainneet rottien putoamista veteen kokeen kahden viimeisen koepäivän aikana – ne oppivat heräämään hännän koskettaessa vettä. Videoseurannassa ei havaittu eläinten välisiä reviiirikiistoja (rotat valittiin samasta kotihäkistä). Kvantitatiivista liikeaktiivisuuden seuranta ei suoritettu, mutta vaikutelma oli, että liikeaktiivisuus jonkin verran väheni kokeen loppua kohti. Silmiinpistävin ero oli sukimisaktiivisuuden (grooming) väheneminen, mikä näkyi turkin tavallista pörheämmästä asennosta kokeen lopulla rotilla, joille suoritettiin REM-unen esto. Emme havainneet aggressiivisuuden tai ärtyneisyyden lisääntymistä, jota jotkut ovat raportoineet. Emme havainneet mitään merkittäviä käytöksen muutoksia kokeen aikana. Yhtään rottaa ei kuollut tai sairastunut niin, että lopettamista kokeen aikana olisi jouduttu harkitsemaan.

3. 3R-mahdollisuudet

1. Korvaus. Uni on kehittyneille aivoille tyypillinen tila eikä sitä voi määrittää yksittäisistä soluista – tarvitaan hermoverkkoja. Näin ollen esim. soluviljelmiä ei voida käyttää kokeissamme muutoin kuin täydentävinä menetelminä. Tähän ei ole näköpiirissä muutosta.

2. Vähentäminen. Suoritamme jokaiselle kokeelle tilastollisen voimalaskelman, jonka perusteella päätetään mikä on minimimäärä kokeeseen osallistujia, jotta tuloksia voidaan pitää tilastollisesti merkittävinä. *In vivo* mikrodialyysissä toimmme mittalaitteiden suorituskyvyn ääriarajoilla, ja joudumme yleensä käyttämään 8 eläintä ryhmään. Jos kuitenkin hajonta on pienempi, eläinmäärä vähennetään kuuteen. Hajontaan vaikuttavia tekijöitä ovat yksilöllisten erojen lisäksi se, kuinka hyvin eläimet on totutettu ihmisen läsnäoloon ja koetoimenpiteisiin. Käytämme 1-2 viikon totuttelua, jota pidemmällä totutusajalla emme ole havainneet paranemista. Eläinten kokema stressi näkyy herkästi REM unen muutoksina, emmekä käytä eläimiä kokeisiin ennen kuin RM uni on normaalistunut.

3. Parantaminen. a) valitsemme kehitysasteeltaan mahdollisimman alhaisen lajin kaikkiin kokeisiin: vain jos koetta ei ole mielekäs tehdä kalan ruskuaispussi-poikasilla, teemme sen jyrksijöillä. Uusi kalanpoikasille kehitetty unen tutkimukseen soveltuva malli tulee vähentämään (mutta ei poistamaan) jyrksijöiden käytön tarvetta.

b) käytämme selkärankaisia, joilla evoluutio muistuttaa mahdollisimman paljon ihmistä. Näin varmistetaan, että esim. aineenvaihdunta mahdollisimman pitkälle muistuttaa ihmistä. On myös tärkeää vertailla tuloksia eri lajien välillä. c) käytämme mahdollisimman lyhyitä unenestokokeita ja estämme unta ainoastaan lajityypillisillä ärsykkeillä. Leikkauksissa kiinnitetään erityistä huomiota riittävään toipumisaikaan ja kivun lievitykseen. Jo edellä mainittu eläinten totuttelujakso on oleellinen osa kaikkia kokeitamme, joka myös parantaa tulosten luotettavuustasoa merkittävästi.

Nähdäksemme laajempi eläinten totuttelun käyttöönotto parantaisi sekä eläinten asemaa että tutkijoiden tuloksia, erityisesti käyttäytymiskokeissa ja muistiin ja oppimiseen liittyvissä kokeissa huomattavasti. Perustietoa stressin vaikutuksista tutkimustuloksiin voisi jakaa koe-eläinten käyttöoikeuteen tähtäävillä kursseilla ja opettaa tutkijoita miten eläin totutetaan ihmisen läsnäoloon.

Taulukko 1. Eläimille aiheutettu haitta, eläinten käyttömäärät ja 3R-soveltaminen

Tiedot on annettava koko hankkeen osalta. Listaa taulukkoon osahankkeet ja/tai toimenpiteet, kerro eläinten käyttömäärät eri vakavuusluokissa sekä käytetyt 3R-keinot. Jatka taulukkoa tarvittaessa. Taulukko julkaistaan hankkeen yleistajuisessa tiivistelmässä.

Osahanke / Toimenpite	Eläinlaji	Tavoitteet saavuttaminen (+ / -)	Eläinmäärä: Luvassa arvioitu / tosiasiallinen	Vakavuusluokka: Luvassa arvioitu / tosiasiallinen	Erityistä aiheutettuun haittaan liittyen: esim. satunnainen / toistuva, saatu vähenemään/ loppumaan 3R-keinoin	3R-keinot: miten eläinmääriä on voitu vähentää tai eläinten hyvinvointia parantaa?
OH 1	rotta	+	460 / 94	Vakava / Vakava		
	hiiri	+	210 / 37	Vak. tai kohtalainen / Vakava		
OH 2	rotta	+	240 / 86; 30 / 6	Kohtalainen / Koht.		
OH 3	rotta	+	340 / 70	Kohtalainen / Koht.		
	hiiri	+	135 / 0	Kohtalainen / Koht.		
OH 4	seeprakala -poikanen	+	4800 / 900	Lievä / Lievä		Jyrsijöiden korvaus

Taulukko 2. Tiedon tehokas jakaminen 3R-keinoista: listaa käyttämäsi 3R-keinot ja pohdi, millä laajuudella keinoja voisi hyödyntää. ESAVI kerää taulukon avulla tietoa 3R-keinoista, joita voisi hyödyntää hankelupalautakunnan toiminnassa tai laajemmin.

Käytetty 3R-keino (alla esimerkkejä)	Hankkeessa sovellettava	Omassa toiminnassa sovellettava	Yleisesti sovellettava	Julkaistaan tuloksia raportoitaessa
Aikaisempi päätepiste	X			
Lyhyempi seuranta-aika	X	X		
Pesämateriaali	X	X	X	X
Lisälämpö operoinnin jälkeen	X	X	X	X
Totuttaminen	X	X	X	X

YLEISTAJUINEN TIIVISTELMÄ JULKAISTAVAKSI NETISSÄ: Tiivistelmä 76-2014			
Hankkeen nimi	Keskushermoston glutamaattireseptorien toiminta ja säätely		
Hankeluvan kesto	3 vuotta		
Avainsanat (enintään 5)	hermosto, stressi, neuropsykiatriset häiriöt, synapsi		
Hankkeen tarkoitus	Perustutkimus	Kyllä	Ei
	Translaatio- tai soveltava tutkimus	Kyllä	Ei
	Lakisääteinen käyttö ja rutiinituotanto	Kyllä	Ei
	Ympäristönsuojelu ihmisten tai eläinten terveyden tai hyvinvoinnin vuoksi	Kyllä	Ei
	Lajien säilyttäminen	Kyllä	Ei
	Korkeamman asteen koulutus tai ammattitaito-opetus	Kyllä	Ei
	Oikeuslääketieteelliset tutkimukset	Kyllä	Ei
	Geneettisesti muunnetun kolonian ylläpito	Kyllä	Ei
Hankkeen tavoitteet (esim. tieteellinen tieto jota haetaan taikka tieteelliset tai hoidolliset tarpeet)	<p>Hermosolujen välisten toiminnallisten yhteyksien muodostuminen ja kehittyminen toimivaksi hermoverkoksi varhaiskehityksen aikana on sähköisen aktiivisuuden ohjaamaa. Tämän tutkimuksen tarkoituksena on tutkia niitä aktiivisuusriippuvia tekijöitä, jotka ohjaavat hermoverkkojen varhaiskehitystä nisäkkään keskushermostossa, erityisesti limbisillä aivoalueilla. Häiriö tässä kehityksessä (esim. varhaisiän stressi) altistaa neuropsykiatrisille oireille aikuisiässä. Tämän ilmiön taustalla toimivat neurobiologiset mekanismit ovat kuitenkin tuntemattomia, minkä vuoksi hermoverkkojen aktiivisuusriippuvaa kehitystä ohjaavien solutason mekanismien tutkiminen on tärkeää.</p>		
Hankkeesta saatava mahdollinen hyöty (kuinka tiede edistyisi, kuinka ihmiset tai eläimet voisivat hyötyä hankkeen tuloksista)	<p>Tutkimuksen tulokset tuovat uutta tietoa keskushermoston kehityksen perusmekanismeista, mutta myös auttavat ymmärtämään useiden lapsuusaikana kehittyvien keskushermostosairauksien syntymekanismia. Limbisen järjestelmän toiminnalliset häiriöt on liitetty useisiin neuropsykiatrisiin sairauksiin sekä mm. epilepsiaan. Tulokset edesauttavat keskushermostosairauksien kohdennettujen hoitomuotojen kehitystyötä.</p>		
Käytettävät eläinlajit ja eläinmäärät	Rotta, 600 eläintä		
Ennakoidut haitat eläimille, arvioidut vakavuusluokat, eläinten kohtalo toimenpiteen päätyttyä	<p>Tutkimuksessa eläimille koituu haittaa stressimallista, kirurgisista toimenpiteistä ja annosteluista. Eläimet lopetetaan kokeen lopussa.</p> <p>Vakavuusluokat: vakava / kohtalainen</p>		
3R-menettelmien soveltaminen	Application of the 3Rs		
1. Korvaaminen Miksi eläimiä on käytettävä tässä hankkeessa ja miksi korvaavaa menetelmää ei voi käyttää?	<p>1. Replacement</p> <p>Nisäkkään keskushermosto on pitkälle erilaistunut kudoksetta monimutkainen elin, jonka kehitys on voimakkaasti riippuvainen fysiologisesta ympäristöstä. Tässä tutkimuksessa pyrimme ymmärtämään niitä hermosolujen aktiivisuudesta riippuvia tekijöitä, jotka ohjaavat hermosolukontaktien muodostumista varhaiskehityksen aikana. Lisäksi tutkimme ympäristön aiheuttamien stressitekijöiden vaikutusta tähän. Koska kehittyville hermoverkoille tyypillinen sisäsyntyinen aktiivisuus ei ilmene esim. solu- tai kudostiljoissa, intaktin eläinkudoksen käyttö on tutkimukselle välttämätöntä.</p>		

	Useimmissa kokeissa käytämme akuutisti eristettyjä hermokudospreparaatteja. Nämä preparaattit eivät kuitenkaan sovellu pitkäkestoiisiin (yli 12 tuntia) kokeellisiin altistuksiin, eivätkä myöskään ympäristön aiheuttamien stressitekijöiden vaikutusten tutkimiseen. Tämän vuoksi joitakin valikoituja kokeita suoritetaan eläimillä.				
2. Vähentäminen Kuinka on varmistettu, että eläimiä käytetään mahdollisimman vähän?	2. Reduction Eläinten määrän minimoimiseksi kaikki käytettävät kokeelliset manipulaatiot (lääkeaineiden vaikutukset sekä virusvälitteiseen geenisiirtoon käytettävät konstruktit) testataan ensin soluviljelmissä tai akuutisti eristetyissä kudospreparaateissa. Näiden alustavien kokeiden perusteella eläinkokeisiin valitaan ainoastaan tutkimuksen kannalta oleelliset koeasetelmat. Kokeita suunniteltaessa pyritään minimoimaan kontrollieläinten määrää mm. käyttämällä samaa kontrolliryhmää vertailukohteena useammalle eri testiryhmälle aina kun tämä on tutkimuksen kannalta mahdollista. Kokeet suorittaa ammattitaitoinen henkilökunta tai tutkijat. Täten pyritään varmistamaan kokeiden onnistuminen suunnitellulla tavalla toistokertojen minimoimiseksi.				
3. Parantaminen a) Perusteet eläinlajin valinnalle. b) Miksi valittu eläinmalli on paras tieteellisten tavoitteiden kannalta? c) Miten eläimille aiheutettu haitta on tarkoitus minimoida?	3. Refinement Hermosolujen ja hermoverkkojen toimintaa on tutkittu laajasti rotilla ja hiirillä. Tämä olemassa oleva tieto edesauttaa kokeiden suunnittelua ja vähentää tarvittavien eläinkokeiden määrää. Varhaisiän stressimallin on havaittu toimivan rotilla paremmin kuin hiirillä. Lisäksi rotta on kooltaan hiirtä suurempi, mikä helpottaa <i>in vivo</i> -virusinjektioiden onnistumisprosenttia. Eläimille aiheutettu kipu ja haitta pyritään minimoimaan käyttämällä anestesiaa ja analgesiaa, varmistamalla eläimen hyvinvointi kokeen aikana (esim. lämpöpatjojen käyttö). Korvaavia <i>in vitro</i> -menetelmiä käytetään aina kun tämä on tutkimusongelman kannalta mahdollista. Manipulaatiot <i>in vivo</i> pyritään kohdentamaan vain tietyille aivoalueelle ja pieneen määrään hermosoluja, jolloin vaikutus eläinten hyvinvointiin on minimaalinen.				
ELLA täyttää: Tehdäänkö hankkeesta takautuva arviointi?	<table border="1"> <tr> <td>KYLLÄ</td> <td>EI</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td></td> </tr> </table>	KYLLÄ	EI	X	
KYLLÄ	EI				
X					

TIEDOT HANKKEEN TAKAUTUVAA ARVIOINTIA VARTEN & ARVIOINTI

Saapumispvm: 22.8.2017.

1. Hankkeen tavoitteiden saavuttaminen

Lupa liittyi uuteen alkavaan projektiin, jonka tavoitteista osa saavutettiin ja osa odottaa jatkotutkimuksia. Varhaisiän stressiin liittyvät kokeet onnistuivat hyvin mutta koska tutkittavan ilmiön taustalla olevat mekanismit ovat monimutkaisia, lopullisia tuloksia ei saavutettu koe-eläinluvan keston aikana. Aivoihin suoritettavat virusinjektiot liittyvät useisiin eri projekteihin, joista osa on saatu päätökseen, osa odottaa jatkokokeita. Eläinmalli sopii hyvin tämän tyyppiseen tutkimukseen.

2. Millaista haittaa?

Tosiasiallinen haitta oli arvioitua pienempi. Yhdessäkään kokeessa poikasten erottaminen emostaan ei johtanut poikueen fyysiseen hyvinvointiin liittyviin ongelmiin. Kokeiden aikana kuitenkin kaksi poikasta löydettiin häkistään kuolleena. Nämä poikaset löydettiin hautautuneena syväälle puruun emon hylkäämänä. Vastaavaa tapahtuu kuitenkin joskus myös normaalin kasvatuksen yhteydessä eivätkä tapahtumat välttämättä liity koeprotokollaan.

Kirurgiset toimenpiteet onnistuivat arvioidusti. Yhteensä 5 eläintä kuoli toimenpiteen aikana anestesiassa, yhtään eläintä ei jouduttu lopettamaan hyvinvointiin liittyvien ongelmien (esim tulehdukset) takia postoperatiivisesti.

3. 3R-mahdollisuudet

Korvaavia menetelmiä käytettiin lupahakemuksessa kuvatulla tavalla, eli esimerkiksi samoja kontrollieläimiä pyrittiin käyttämään useammassa koesarjassa ja vaihtoehtoisia menetelmiä (akuutisti eristetyt tai viljellyt preparaattit) käytettiin aina kun mahdollista.

Uusia vaihtoehtoisia menetelmiä tämän kaltaiseen tutkimukseen ei ole kehitetty luvan aikana.

Uskoisin että tässä tutkimuksessa eläinten hyvinvointiin liittyvät toimenpiteet ovat viety jo pitkälle, ja eläinten kokema kipu ja kärsimys minimoitu mahdollisimman huolellisesti ja hyvin.

Eläinmäärät : eläinten toteutunut käyttö pysyi arvioiduissa rajoissa. Poikkeuksena hiiret, joiden kohdalla suunniteltu projekti ei toteutunut luvan voimassaoloaikana.

Taulukko 1. Eläimille aiheutettu haitta, eläinten käyttömäärät ja 3R-soveltaminen

Tiedot on annettava koko hankkeen osalta. Listaa taulukkoon osahankkeet ja/tai toimenpiteet, kerro eläinten käyttömäärät eri vakavuusluokissa sekä käytetyt 3R-keinot. Jatka taulukkoa tarvittaessa. Taulukko julkaistaan hankkeen yleistajuisessa tiivistelmässä.

Osahanke / Toimenpide	Eläinlaji	Tavoitteet saavuttaminen (+ / -)	Eläinmäärä: Luvassa arvioitu / tosiasiallinen	Vakavuusluokka: Luvassa arvioitu / tosiasiallinen	Erytystä aiheutettuun haittaan liittyen: esim. satunnainen / toistuva, saatu vähenemään/ loppumaan 3R-keinoin	3R-keinot: miten eläinmääriä on voitu vähentää tai eläinten hyvinvointia parantaa?
osahanke 1 varhaisiän stressi	rotta	+ ; suurin osin, projekti jatkuu	86-278 / 217	vakava / kohtalainen		käytetään samaa kontrollidataa useammassa eri koeasetelmassa
osahanke 2 geenimanipu laatio in vivo	rotta	+ ; suurin osin, projekti jatkuu	55-270/ 168	kohtalainen / kohtalainen tai lievä		käytetään vaihtoehtoisia menetelmiä aina kun mahdollista sekä testataan käytettävät manipulaatiot huolellisesti <i>in vitro</i> -olosuhteissa.
osahanke 2 geenimanipu laatio in vivo	hiiri	-, projekti ei toteutunut	200/ 9	kohtalainen / kohtalainen tai lievä		käytetään vaihtoehtoisia menetelmiä aina kun mahdollista sekä testataan käytettävät manipulaatiot huolellisesti <i>in vitro</i> -olosuhteissa.

Taulukko 2. Tiedon tehokas jakaminen 3R-keinoista: listaa käyttämäsi 3R-keinot ja pohdi, millä laajuudella keinoja voisi hyödyntää.

ESAVI kerää taulukon avulla tietoa 3R-keinoista, joita voisi hyödyntää hankelupalautakunnan toiminnassa tai laajemmin.

Käytetty 3R-keino (alla esimerkkejä)	Hankkeessa sovellettava	Omassa toiminnassa sovellettava	Yleisesti sovellettava	Julkaistaan tuloksia raportoitaessa
Pesämateriaali	X	X	X	X
Lisälämpö operoinnin jälkeen	X	X	X	X

YLEISTAJUINEN TIIVISTELMÄ JULKAISTAVAKSI NETISSÄ: Tiivistelmä 85-2014			
Hankkeen nimi	Uusien lääkeaineiden kipua lievittävän tehon tutkiminen jyrksijöissä		
Hankeluvan kesto	3 vuotta		
Avainsanat (enintään 5)	Krooninen kipu, neuropatia		
Hankkeen tarkoitus	Perustutkimus	Kyllä	<u>Ei</u>
	Translaatio- tai soveltava tutkimus	<u>Kyllä</u>	Ei
	Lakisääteinen käyttö ja rutiinituotanto	Kyllä	<u>Ei</u>
	Ympäristönsuojelu ihmisten tai eläinten terveyden tai hyvinvoinnin vuoksi	Kyllä	<u>Ei</u>
	Lajien säilyttäminen	Kyllä	<u>Ei</u>
	Korkeamman asteen koulutus tai ammattitaito-opetus	Kyllä	<u>Ei</u>
	Oikeuslääketieteelliset tutkimukset	Kyllä	<u>Ei</u>
	Geneettisesti muunnetun kolonian ylläpito	Kyllä	<u>Ei</u>
Hankkeen tavoitteet (esim. tieteellinen tieto jota haetaan taikka tieteelliset tai hoidolliset tarpeet)	<p>Lääketutkimus tähtää sellaisten kiputilojen hoitoon, joihin ei toistaiseksi ole olemassa tehokasta ja turvallista lääkkeellistä hoitoa. Yksi esimerkki tällaisesta kivusta on hermovaurioperäinen (=neuropaattinen) kipu. Hermovaurioperäistä kipua esiintyy suurten leikkausten jälkeen jopa 50 %:lla potilaista. Myös syövän hoito sytostaateilla aiheuttaa suurella osalla potilaista pitkäkestoista hermovaurioperäistä kipua. Hermovaurioperäinen kipu liittyy niin ikään joihinkin sairaustiloihin kuten diabetekseen ja sokeriaineenvaihdunnan häiriöihin. Neuropaattisesta kivusta kärsivien potilaiden määrän oletetaan lisääntyvän merkittävästi tulevaisuudessa ihmisten eliniän pidentyessä ja tiettyjen sairauksien, kuten diabeteksen ja syövän esiintyvyyden kasvaessa. Näin ollen tarve hermovaurioperäisen kivun hoitoon tulee samalla lisääntymään huomattavasti. Lisäksi krooninen kipu tuo mukanaan muita ongelmia, kuten unihäiriöitä ja masennusta. Tällä hetkellä neuropaattisen kivun hoidossa käytettävät lääkkeet ovat teholtaan vaatimattomia ja/tai käyttöön liittyy paljon haittavaikutuksia, kuten esim. väsymystä, ummetusta, huimausta ja pahoinvointia.</p>		
Hankkeesta saatava mahdollinen hyöty (kuinka tiede edistyisi, kuinka ihmiset tai eläimet voisivat hyötyä hankkeen tuloksista)	Uusien tehokkaampien ja turvallisempien kipua lievittävien lääkkeiden/hoidojen kehittäminen ja edesauttaminen näiden markkinoille saattamisessa, jotta hermovaurioperäisestä kivusta kärsiviä potilaita pystyttäisiin hoitamaan.		
Käytettävät eläinlajit ja eläinmäärät	Rotta 9300, hiiri 5700 eläintä		
Ennakoidut haitat eläimille, arvioidut vakavuusluokat, eläinten kohtalo toimenpiteen päätyttyä	<p>Tutkimuksessa eläimille aiheutuu haittaa neuropatian aiheuttamisesta kemiallisesti ja mekaanisesti (kirurgisesti). Lisäksi haittaa aiheutuu tutkittavien aineiden annosteluista ja kipuherkkyiden mittaamisesta. Mittaukset ovat lyhytkestoisia/kynnyksellisiä eli ärsyke päättyy välittömästi eläimen yksilöllisen mekaanisen tai termaalitunnon kynnyksen selvittyä tai cut off ajan kuluttua. Osassa malleja herkistymistila on pitkäkestoinen, jolloin ajoittain tätä mitattaessa voi esiintyä lyhytkestoista voimakkaampaa kiputuntemusta.</p> <p>Vakavuusluokat: Kohtalainen, Vakava</p>		
3R-menetelmien soveltaminen	Application of the 3Rs		
1. Korvaaminen	1. Replacement		

<p>Miksi eläimiä on käytettävä tässä hankkeessa ja miksi korvaavaa menetelmää ei voi käyttää?</p>	<p>Tutkittavien lääkeaineiden vaikutusmekanismien selvitykset in vitro – kokeissa ovat hyvin laaja-alaisesti käytössä tukemassa tässä hankeluvassa kuvattujen osahankkeiden suunnittelua/tuloksia. Kosketus- ja kiputunnon herkistyminen ovat olennaisesti kipuun liittyviä aistivälitteisten toimintojen muutoksia ihmisellä, joiden tutkiminen edellyttää elävässä eläimessä olevan kokonaisen hermojärjestelmän (aivot, selkäydin ja ääreishermosto) toimintaa. Hermojärjestelmän toiminnan muutoksia voi tutkia vain elävän eläimen käyttäytymisvasteita mittaamalla. Tässä hankeluvassa kuvatuille mekaanista, kylmä- tai kuumaherkkyyttä määrittäville kokeille ja niistä saatavalle tiedolle ei ole olemassa korvaavaa kokeellista menetelmää tehtäväksi eläimillä, joiden keskushermoston kehitystaso on alempi, tai menetelmää, joka ei edellyttäisi eläinten käyttöä.</p>
<p>2. Vähentäminen Kuinka on varmistettu, että eläimiä käytetään mahdollisimman vähän?</p>	<p>2. Reduction Tutkittavat aineet ovat ennen eläinmalleissa testaamista seulottu useiden in vitro -menetelmien avulla niin, että aineiden voidaan vahvasti olettaa vaikuttavan terapeuttisesti tautimalleissa. Hankeluvassa kuvatut kosketus- ja kiputunnon herkistymisen tutkimiseen käytettävät käyttäytymismallit ovat keskeisimmät kivun poistoa tai kliinistä tehoa mittaavat eläinmallit. Mallit validoidaan huolellisesti ihmisillä kliinisesti käytössä olevilla yhdisteillä ennen niiden rutiininomaista käyttöönottoa ja niitä käytetään vain kaikkein potentiaalisimpien lääkeainekandidaattien tutkimiseen. Lisäksi lääkeaineen teho tutkitaan ensin yksinkertaisemmissa kipumalleissa, joiden perusteella valitaan vain tehokkaat ja siedetyt molekyylit jatkoon vaativampiin malleihin. Eläimistä, joille on aiheutettu kirurgisella toimenpiteellä hermovaurio, huolehditaan erityisen tarkasti ja niille tarjotaan riittävät lepojaksot tutkimusjaksojen välillä, jotta niitä voidaan käyttää mahdollisimman pitkään aiheuttamatta vakavaa haittaa. Näin vähennetään tarvetta tehdä leikkausoperaatio suurelle määrälle eläimiä.</p>
<p>3. Parantaminen a) Perusteet eläinlajin valinnalle. b) Miksi valittu eläinmalli on paras tieteellisten tavoitteiden kannalta? c) Miten eläimille aiheutettu haitta on tarkoitus minimoida?</p>	<p>3. Refinement Kirjallisuudessa sekä tässä hankeluvassa kuvatut kosketus- ja kiputunnon herkistymisen tutkimiseksi käytettävät tutkimusmallit ovat validoitu hiirillä ja/tai rotilla. Kuvatut kivun tutkimusmallit ovat kirjallisuudessa keskeisimmät/käytetyimmät ja validoiduimmat kivun poistoa (= analgeettinen teho) tai kliinistä tehoa kivussa mittaavat eläinmallit. Vaativammissa, kirurgisesti aikaansaaduissa hermovaurioperäisen kivun tutkimusmalleissa käytetään operaation aikaisesti anestesia- ja kipulääkeprotokollaa, joka on validoitu malleihin ja todennettu, että se ei estä herkistymistilan syntymistä, mutta ehkäisee kuitenkin leikkauksen aikaisen kivun. Käytössä olevat mallit/toimenpiteet eivät muuta eläinten normaalia vuorokausirytmää, sosiaalista toimimista tai peseytymiskäyttäytymistä. Ne pystyvät pääasiallisesti liikkumaan normaalisti neljän raajan varassa purutetussa kotilaatikossa, eivätkä mallit aiheuta aiemman kokemuksemme eivätkä kirjallisuuden mukaan eläimille autotomiaa. Yhdelle eläimelle ei tehdä kuin yksi kirurginen tai kemiallinen toimenpide. Eläinten hyvinvoinnin seurannan tukena käytetään painon seuranta. Tässä hankeluvassa kuvatuissa vaativammisakin tutkimusmalleissa eläinten paino</p>

	nousee normaalisti asianmukaisesti. Eläintöistä vuosien kokemuksen omaava ja koulutettu henkilöstö huolehtii eläinten lopettamisesta toimenpiteen päätyttyä, kulloisenkin osahankkeen tavoitteen saavutettua tai ennenaikaisesti lopetuskriteerien täytyttyä.	
ELLA täyttää: Tehdäänkö hankkeesta takautuva arviointi?	KYLLÄ	EI
	X	

TIEDOT HANKKEEN TAKAUTUVAA ARVIOINTIA VARTEN & ARVIOINTI

Saapumispvm: 2.10.2017.

1 Hankkeen tavoitteiden saavuttaminen

Hankkeen ensisijainen tavoite on ollut uusien lääkeainekandidaattimolekyylien tehon tutkiminen jyrksijöiden kipumalleissa, jotta voidaan arvioida molekyylien mahdollisuuksia lievittää kipua potilailla. Tämän hankkeen kokeet ovat osaltaan mahdollistaneet sopivien molekyylien identifioimisen ja eteenpäin viemisen kliinisiin kokeisiin. Luvan voimassaolon aikana kahden eri kipulääkeprojektin yhdisteitä on edennyt kliinisiin ihmistutkimuksiin.

Osahankkeen 2, kolmoishermostörynn mallin, lautakunta oli arvioinut vakavaan luokkaan. Tätä mallia meidän ei ole ollut tarpeen käyttää tavoitteiden saavuttamiseksi, sillä kolmoishermostörynn tutkimisen ei ole katsottu tuovan merkittävää lisäarvoa tämän hetkissä lääkekehitysprojekteissamme.

2 Millaista haittaa?

Hankeluvassa ainoastaan osahankkeen 2 kolmoishermostörynnmalli arvioitiin alun perin luokkaan vakava. Tämän mallin validoimiseen ei kuitenkaan tullut tarvetta luvan voimassaoloaikana.

Yksittäisiä eläimiä osahankkeessa 2 jouduttiin kuitenkin luokittelemaan vakavaan luokkaan. Tällaisilla eläimillä havaittiin jalan hermotuksen liiallisesta vauriosta johtuvaa varpaiden ja kynsien jyrksimistä. Liian suuri vaurio aiheuttaa todennäköisesti tunnottomuutta, ja mahdollisesti kutinaa. Eläimille on silloin luonteenomaista jyrksiä näitä osia. Tällöin on mahdollista, että alue tulehtuu. Yhteisymmärryksessä hyvinvointiryhmän kanssa päätettiin luokitella nämä eläimet vakavaan luokkaan.

Näiden havaintojen jälkeen, pyrimme tekemään pieniä muutoksia kirurgian suhteen liittyen erityisesti SNI (spared nerve injury) malliin. Huomasimme, että oli erityisen tärkeää olla koskettelematta tai liikuttelematta ehjäksi jäävää suraalihermoja. Myös eläinten käsittelyä operaation jälkeen vähennettiin, kuitenkin huolehtien siitä, että jalan kunto tarkistettiin päivittäin.

3 3R-mahdollisuudet

Muutosluvassa ESAVI/6818/04.10.07/2015 perustelimme, miksi buprenorfiinin (Temgesic) jättö ja pitäytyminen karprofeenissa (Rimadyl) edistää eläimen toipumista.

Eläinten lopetusten yhteydessä tai kokeen aikana otetut näytteet lisäävät ymmärrystä biologisista mekanismeista ja testattujen aineiden kinetiikasta. Tämä on suositeltavaa, ja tällaista työtä on lisätty myös meidän laboratoriossamme.

4 Eläimille aiheutettu haitta, eläinten käyttömäärät ja 3R-soveltaminen

Tiedot on annettava koko hankkeesta. Listaa taulukkoon osahankkeet ja toimenpiteet, kerro eläinten käyttömäärät eri vakavuusluokissa sekä käytetyt 3R-keinot. Jatka taulukkoa tarvittaessa.

Osahanke / Toimenpide	Eläinlaji	Eläinmäärä Luvassa arvioitu/tosiasiallinen	Vakavuusluokka: Tosiasiallinen / Luvassa arvioitu	Erytystä aiheutettuun haittaan liittyen: esim. satunnainen/ toistuva, saatu vähenemään/ loppumaan 3R-keinoin	3R-keinot: miten eläinmääriä on voitu vähentää tai eläinten hyvinvointia parantaa?
Osahanke 1/sisältää tulehduskipumalli- ja nivelrikkomallikokeita	Rotta	7200 (ao. mallit 6000) / 697	Kohtalainen/Kohtalainen		
Osahanke1/ sisältää tulehduskipumallin (formaliini) kokeita	Hiiri	4500 (ao. mallit 3600) / 249	Kohtalainen/Kohtalainen		
Osahanke 1/ sisältää tulehduskipumallin (formaliini) kokeita	Hiiri	9	Vakava/Kohtalainen	Vakavuusluokan nousu johtui tutkittavasta aineesta, ei tutkimusmallista.	Yhdessä kokeessa yhdeksän eläintä kuoli yllättäen toistuvan annostelun aikana. Tällaisten yllätysten varalta olisi hyvä testata aineiden siedettävyyttä vielä pienemmällä eläinmäärällä ennen pitkäaikaista annostelua ja toisaalta annostelu pitää lopettaa muilla saman ryhmän eläimillä tällaisten tilanteiden sattuessa.
Osahanke2/sisältää lonkkahermon neuropatiamalleja	Rotta	2100 / 485	Kohtalainen/kohtalainen		
Osahanke2/ sisältää lonkkahermon neuropatiamalleja	Rotta	54	Vakava/kohtalainen	Kynsien tai varpaiden jyrsimistä – satunnaista ja saatu vähenemään	Alla tutkijan pohdiskelua ja toimenpiteitä tämän vähentämiseksi ¹⁾ . Toimenpiteet auttoivat vähentämään autotomiaa.
	Hiiri	1200 / 0			
0 näytteet	Rotta	60		Näytteet lopetetuilta eläimiltä. Ei eläinkoe.	

1) To reduce autotomy by applying good surgery technique:

The accumulated connective tissue in the ligation site in autotomy rats suggests an unspecific inflammation may have developed in the surgery site. Also, the sciatic nerve might have been stretched during the surgery in these rats, which may have affected the later development of autotomy of the operated leg and paw. Special attention will be paid on aseptic surgery technique (e.g. autoclaved instruments and clean operation base) and on how the nerve is handled (no lifting and stretching) in future SNI surgeries. The tibial and common peroneal nerves may have been ligated together in one bunch and then cut. It was found at autopsies that sometimes these nerves were not cut or they had been cut but the nerve ends had grown back together. In the next experiment, the nerves should be ligated separately and ca. 2 mm of the nerves below

the ligation will be removed in order to prevent the nerve ends from growing back together. These surgeries were performed by making an incision in the biceps femoris muscle. SNI operation can be performed also without making the incision in the muscle. In future, SNI operations could be performed in that way, to prevent unnecessary damage in the surrounding tissues and possible consequential autotomy.