

2017 - TAKAUTUVAA ARVIOINTIA VARTEN ANNETUT TIEDOT

– julkaistaan tässä yhdessä hankkeiden yleistajuisten tiivistelmien kanssa.

Hankeluvat ovat vuodelta 2014.

1

3. YLEISTAJUINEN TIIVISTELMÄ: Täytettynä korkeintaan yhden sivun mittainen, ks. EU-komission ohje ja esimerkki.		
Hankkeen nimi	Syöpäkudosten ja metastaasien kuvantaminen	
Hankeluvan kesto	3 vuotta	
Avainsanat	Syöpä, kuvantaminen	
Hankkeen tarkoitus	Perustutkimus	Kyllä
	Translaatio- tai soveltava tutkimus	Ei
	Lakisääteinen käyttö ja rutiinituotanto	Ei
	Ympäristönsuojelu ihmisten tai eläinten terveyden tai hyvinvoinnin vuoksi	Ei
	Lajien säilyttäminen	Ei
	Korkeamman asteen koulutus tai ammattitaito-opetus	Ei
	Oikeuslääketieteelliset tutkimukset	Ei
	Geneettisesti muunnetun kolonian ylläpito	Ei
Hankkeen tavoitteet (esim. tieteellinen tieto, jota haetaan taikka tieteelliset tai hoidolliset tarpeet)	Tämän projektin tarkoituksena on tutkia laboratoriomme kehittämää 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 markkerit, joita kehitämme ja seulomme 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-menetelmien soveltaminen		
1. Korvaaminen Miksi eläimiä on käytettävä tässä hankkeessa ja miksi korvaa vaa 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 jäljittelemisen 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 in vivo -kuvantamista. Tästä johtuen meidän tulee käyttää soluviljelmien sijasta eläimiä, jotta voimme suunnitella tehokkaita optisia leimoja in vivo -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.
Hankkeesta ei tehdä / tehdään 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 nukuksia, minkä vuoksi vakavuusluokittelusta oli epävarmuutta. Suunniteltuja kokeita ei ole toteutettu. Takautuvaa arviointia ei ole tarpeen tehdä.

2

YLEISTAJUINEN TIIVISTELMÄ: Tiivistelmä 35-2014		
Hankkeen nimi	Syövän kasvun, invasoitumisen ja metastasoitumisen säätely	
Hankeluvan kesto	3 vuotta	
Avainsanat	syöpä, kasvain, etäpesäke	
Hankkeen tarkoitus	Perustutkimus	Kyllä
	Translaatio- tai soveltava tutkimus	Kyllä
	Lakisääteinen käyttö ja rutiinituotanto	Ei
	Ympäristönsuojelu ihmisten tai eläinten terveyden tai hyvinvoinnin vuoksi	Ei
	Lajien säilyttäminen	Ei
	Korkeamman asteen koulutus tai ammattitaito-ope- tus	Ei
	Oikeuslääketieteelliset tutkimukset	Ei
	Geneettisesti muunnetun kolonian ylläpito	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.	

<p>Hankkeesta saatava mahdollinen hyöty (kuinka tiede edistyisi, kuinka ihmiset tai eläimet voisivat hyötyä hankkeen tuloksista)</p>	<p>Syöpään sairastuu elämänsä aikana joka neljäs suomalainen. Jos syöpätautien etenemismekanismit tunnettaisiin paremmin, voitaisiin kehittää uusia lääkekehityskohteita sekä ennusteellisia ja diagnostisia määritysmenetelmiä ja sitä kautta vaikuttaa suoraan syöpäpotilaiden ja heidän omaistensa hyvinvointiin. Uusien lääkeaihioiden tehon testaaminen tarkoituksenmukaisissa eläinmalleissa on olennainen osa lääkekehitystä.</p>
<p>Käytettävät eläinlajit ja eläinmäärät</p>	<p>Hiiri, 3000 eläintä</p>
<p>Ennakoidut haitat eläimille, arvioidut vakavuusluokat, eläinten kohtalo toimenpiteen päätyttyä</p>	<p>Eläimille aiheutuu haittaa kirurgisista toimenpiteistä (esim. syöpäsolujen istutus eturauhaseen) sekä itse kasvaimille. Metastaasi muodostuttua esim. luuhun eläin saattaa tuntea kipua. Kipua lääkitään kipulääkkeillä ja eläin lopetetaan, jos lopetuskriteerit täyttyvät.</p> <p>Vakavuusluokat: vakava</p>
<p>3R-menetelmien soveltaminen</p>	<p>Application of the 3Rs</p>
<p>1. Korvaaminen Miksi eläimiä on käytettävä tässä hankkeessa ja miksi korvaavaa menetelmää ei voi käyttää?</p>	<p>1. Replacement Syöpää voidaan tutkia rajoitetusti soluviljely- ja kudosisviljelykokeilla, mutta kasvaimen kasvua ja etäpesäkkeiden muodostumista voidaan mallintaa vain nisäkkäillä.</p>
<p>2. Vähentäminen Kuinka on varmistettu, että eläimiä käytetään mahdollisimman vähän?</p>	<p>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.</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 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 immuno-kompetentteja 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.</p>
<p>Hankkeesta ei tehdä / tehdään takautuva arviointi</p>	<p>KYLLÄ</p>

TIEDOT HANKKEEN TAKAUTUVAA ARVIOINTIA VARTEN

Saapumispvm: 20.7.2017, 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 lääkeaihioiden tehokkuutta syövän hoidossa.

Hankkeessa on toteutettu yhteensä 29 tutkimusta, joissa on tutkittu 17 mahdollisen uuden syöpälääkkeen tehokkuutta ja vaikutusmekanismeja 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 tosi-asiallisesta 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 perusteella 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 oraalisuorituksenä (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	Eriyistä 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 annosteluliuoksen 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 ”hyppelähtävä” 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	<p>Vakavat haitat liittyivät epäonnistuneeseen po-annosteluun. Annostelijoiden harjaantumiseen ja muovisondien tiheämpään vaihtamiseen kiinnitettiin enemmän huomiota. Metallisondia ei käytetä.</p> <p>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	Vakava 45 Kohtalainen 539 Lievä 242	<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.</p> <p>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 annos-</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>

				teltu. Joukossa on myös niitä, joihin lää- kitys on tehonnut todella hyvin eikä ole mitään merkkiä taudista.	
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 virt- sakiviä ja/tai virtsan pidätysongelmia, jotka johtavat genitaalialueen ihon är- sytykseen ja jopa rikkoutumiseen. Va- kavien oireiden takia eläin lopetetaan.	Estrogeenilisän annostelumuotoa koi- tettiin vaihtaa, mutta haittavaikutukset olivat samanlaiset riippumatta annoste- lureitistä. Kokeilimme eri hiirikantoja selvittääksemme, ovatko havaitut hai- talliset vaikutukset samanlaisia kaikissa kannoissa. Havaitimme että NOG-hiiri- kannalle ei tullut minkäänlaisia haitta- vaikutuksia estrogeenilisästä. Vastai- suudessa käytämme NOG-hiiriä ko- keissa, joissa tarvitaan estrogeenilisää, jos se vain on mahdollista. Koska NOG-hiiret kestävät huonosti sä- teilyä, niitä ei ole mahdollista käyttää kokeissa joissa testattavana on radiote- rapeuttinen aine. Tämän johdosta tes- tasimme myös Rag2 knock-out (R2G2, Envigo) hiirillä estrogeenilisän sietoa. Nämä hiiret eivät ole normaalia her- kempiä säteilylle. Valitettavasti tällä hii- rikannalla haittoja havaittiin.
Syöpäsolujen uudelleen- tutus	hiiri	0	-	-	-

YLEISTAJUINEN TIIVISTELMÄ: Tiivistelmä 51-2014		
Hankkeen nimi	Syövän kasvun, invasoitumisen ja metastasoitumisen säätely	
Hankeluvan kesto	3 vuotta	
Avainsanat	syöpä, kasvain, etäpesäke	
Hankkeen tarkoitus	Perustutkimus	Kyllä
	Translaatio- tai soveltava tutkimus	Kyllä
	Lakisääteinen käyttö ja rutiinituotanto	Ei
	Ympäristönsuojelu ihmisten tai eläinten terveyden tai hyvinvoinnin vuoksi	Ei
	Lajien säilyttäminen	Ei
	Korkeamman asteen koulutus tai ammattitaito-opetus	Ei
	Oikeuslääketieteelliset tutkimukset	Ei
	Geneettisesti muunnetun kolonian ylläpito	Ei
Hankkeen tavoitteet (esim. tieteellinen tieto, jota haetaan taikka tieteelliset tai hodolliset 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 määritysmenetelmiä ja sitä kautta vaikuttaa suoraan syöpäpotilaiden ja heidän omaistensa hyvinvointiin. Uusien lääkeaihioiden tehon testaaminen tarkoituksenmukaisissa eläinmaaleissa 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-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 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 luvalla	161
Siirretty edelliseltä luvalla	0
Siirretty seuraavalle luvalla	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 määrittämistä. Tällöin tarvittava eläinmäärä kokeessa pieneni 50%.

4

YLEISTAJUINEN TIIVISTELMÄ: Tiivistelmä 63-2014		
Hankkeen nimi	Pitkittyneen valveen seuraukset: homeostaattinen säätely ja terveysvaikutukset	
Hankeluvan kesto	3 vuotta	
Avainsanat	Uni, unen puute, metabolia, immuunivaste, vuorokausirytmii	
Hankkeen tarkoitus	Perustutkimus	Kyllä
	Translaatio- tai soveltava tutkimus	Ei
	Lakisääteinen käyttö ja rutiinituotanto	Ei
	Ympäristönsuojelu ihmisten tai eläinten terveyden tai hyvinvoinnin vuoksi	Ei
	Lajien säilyttäminen	Ei
	Korkeamman asteen koulutus tai ammattitaito-ope- tus	Ei
	Oikeuslääketieteelliset tutkimukset	Ei
	Geneettisesti muunnetun kolonien ylläpito	Ei
Hankkeen tavoitteet (esim. tie- teellinen 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 hyöttyä 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 hajuainetuhoaminen voi aiheuttaa eläimille masennusoireita. Vuorokausirytmien muutos pitkäaikaisena voi häiritä eläinten normaalia elämää. Vakavuusluokat: lievä, kohtalainen, 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 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 merkittävänä.
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) valitsemme kehitystasoltaan 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 ärsykkeillä. Leikkauksissa kiinnitetään erityistä huomiota riittävään toipumisaikaan ja kivun lievitykseen.
Hankkeesta ei tehdä / tehdään takautuva arviointi	KYLLÄ

TIEDOT HANKKEEN TAKAUTUVAA ARVIOINTIA VARTEN & ARVIOINTI

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 depression ja validoitiin uusi

eläinmalli (rotta) juuri tähän tutkimukseen sopivaksi. Tutkimuksen tulokset on julkaistu tois-
taiseksi yhdessä julkaisussa. Osahankkeessa käytettiin vain rottia. Osahankkeessa kolme tutkit-
tiin erityisesti immuunijärjestelmän ja unen välisiä yhteyksiä. Tässä suuntauduimme hieman uu-
delleen siirtyen pääasiallisesta rottien käytöstä hiirien käyttöön. Kokeet ovat osittain kesken,
joten tästä osaprojektista ei ole vielä ole julkaisuja. Osaprojektissa 4 kehitettiin unitutkimuk-
seen soveltuva seeprakalan toukkamalli. Kehitystyö onnistui hyvin, ja malli on julkaistu tieteelli-
senä julkaisuna. Muutosluvalla toteutetussa kokeessa saavutettiin sille asetettu tieteellinen ta-
voite.

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 totu-
tettiin koeympäristöön ilman vettä. Lupapäätöksen suosituksista toteutettiin veden lämmitys
sekä ylimääräinen ruukku ja suojaverkon kiipeilyominaisuudet, jotka ovat kuuluneet tutkimus-
protokollaan 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. Videoseuran-
nassa ei havaittu eläinten välisiä reviiirikiistoja (rotat valittiin samasta kotihäkistä). Kvantitatiiv-
ista liikeaktiivisuuden seuranta ei suoritettu, mutta vaikutelma oli, että liikeaktiivisuus jonkin
verran väheni kokeen loppua kohti. Silmiinpistävin ero oli sukimisaktiivisuuden (grooming) vä-
heneminen, mikä näkyi turkin tavallista pörheämmästä asennosta kokeen lopulla rotilla, joille
suoritettiin REM-unen esto. Emme havainneet aggressiivisuuden tai ärtyneisyyden lisäänty-
mistä, jota jotkut ovat raportoineet. Emme havainneet mitään merkittäviä käytöksen muutok-
sia kokeen aikana. Yhtään rottia 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 so-
luista – tarvitaan hermoverkkoja. Näin ollen esim. soluviljelmää ei voida käyttää kokeissamme
muutoin kuin täydentävinä menetelminä. Tähän ei ole näköpiirissä muutosta.

2. Vähentäminen. Suoritamme jokaiselle kokeelle tilastollisen voimalaskelman, jonka perus-
teella päätetään mikä on minimimäärä kokeeseen osallistujia, jotta tuloksia voidaan pitää ti-
lastollisesti merkittävänä. **In vivo** mikrodialyysissä toimimme mittalaitteiden suorituskyvyn ää-
rirajoilla, ja joudumme yleensä käyttämään 8 eläintä ryhmään. Jos kuitenkin hajonta on pie-
nempi, 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 parane-
mista. 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 mielekästä tehdä kalan ruskuaispussi-poikasilla, teemme sen jyrсийöillä. Uusi kalanpoikasille kehitetty unen tutkimukseen soveltuva malli tulee vähentämään (mutta ei poistamaan) jyrсийöiden 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 / Toimenpide	Eläinlaji	Tavoitteet saavuttaminen (+ / -)	Eläinmäärä: Luvassa arvioitu / tosiasiallinen	Vakavuusluokka: Luvassa arvioitu / tosiasiallinen	Eriyistä 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: Tiivistelmä 76-2014		
Hankkeen nimi	Keskushermoston glutamaattireseptorien toiminta ja säätely	
Hankeluvan kesto	3 vuotta	
Avainsanat	hermosto, stressi, neuropsykiatriset häiriöt, synapsi	
Hankkeen tarkoitus	Perustutkimus	Kyllä
	Translaatio- tai soveltava tutkimus	Ei
	Lakisääteinen käyttö ja rutiinituotanto	Ei
	Ympäristönsuojelu ihmisten tai eläinten terveyden tai hyvinvoinnin vuoksi	Ei
	Lajien säilyttäminen	Ei
	Korkeamman asteen koulutus tai ammattitaito-ope- tus	Ei
	Oikeuslääketieteelliset tutkimukset	Ei
	Geneettisesti muunnetun kolonian ylläpito	Ei
Hankkeen tavoitteet (esim. tie- teellinen tieto, jota haetaan taikka tieteelliset tai hoidolliset tarpeet)	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.	
Hankkeesta saatava mahdollinen hyöty (kuinka tiede edistyisi, kuinka ihmiset tai eläimet voisivat hyötyä hankkeen tuloksista)	Tutkimuksen tulokset tuovat uutta tietoa keskushermoston ke- hityksen perusmekanismeista, mutta myös auttavat ymmärtä- mään useiden lapsuusaikana kehittyvien keskushermostosai- rauksien syntymekanismeja. Limbisen järjestelmän toiminnalli- set häiriöt on liitetty useisiin neuropsykiatrisiin sairauksiin sekä mm. epilepsiaan. Tulokset edesauttavat keskushermostosai- rauksien kohdennettujen hoitomuotojen kehitystyötä.	
Käytettävät eläinlajit ja eläin- määrät	Rotta, 600 eläintä	
Ennakoidut haitat eläimille, arvi- oidut vakavuusluokat, eläinten kohtalo toimenpiteen päätyttyä	Tutkimuksessa eläimille koituu haittaa stressimallista, kirurgi- sista toimenpiteistä ja annosteluista. Eläimet lopetetaan ko- keen lopussa. Vakavuusluokat: vakava, kohtalainen	
3R-menetelmien soveltaminen	Application of the 3Rs	
1. Korvaaminen Miksi eläimiä on käytettävä tässä hankkeessa ja miksi korvaavaa menetelmää ei voi käyttää?	1. Replacement Nisäkkään keskushermosto on pitkälle erilaistunut kudostaraken- teeltaan monimutkainen elin, jonka kehitys on voimakkaasti riippuvainen fysiologisesta ympäristöstä. Tässä tutkimuksessa	

	<p>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 kudostutkimuksissa, intaktin eläinkudoksen käyttö on tutkimukselle välttämätöntä.</p> <p>Useimmissa kokeissa käytämme akuutisti eristettyjä hermokudospreparaatteja. Nämä preparaattit eivät kuitenkaan sovellu pitkäkestoisiin (yli 12 tuntia) kokeellisiin altistuksiin, eivätkä myöskään ympäristön aiheuttamien stressitekijöiden vaikutusten tutkimiseen. Tämän vuoksi joitakin valikoituja kokeita suoritetaan eläimillä.</p>
<p>2. Vähentäminen Kuinka on varmistettu, että eläimiä käytetään mahdollisimman vähän?</p>	<p>2. Reduction</p> <p>Eläinten määrän minimoimiseksi kaikki käytettävät kokeelliset manipulaatiot (lääkeaineiden vaikutukset sekä virusvälitteisen geenisiirtoon käytettävät konstruktit) testataan ensin soluviljelmässä tai akuutisti eristetyissä kudospreparaateissa. Näiden alustavien kokeiden perusteella eläinkokeisiin valitaan ainoastaan tutkimuksen kannalta oleelliset koeasetelmat.</p> <p>Kokeita suunniteltaessa pyritään minimoimaan kontrollieläinten määrää mm. käyttämällä samaa kontrolliryhmää vertailukohteena useammalle eri testiryhmälle aina kun tämä on tutkimuksen kannalta mahdollista.</p> <p>Kokeet suorittaa ammattitaitoinen henkilökunta tai tutkijat. Täten pyritään varmistamaan kokeiden onnistuminen suunnitellulla tavalla toistokertojen minimoimiseksi.</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</p> <p>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 in vivo- virusinjektioiden onnistumisprosenttia.</p> <p>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.</p>
<p>Hankkeesta ei tehdä / tehdään takautuva arviointi</p>	<p>KYLLÄ</p>

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 jatkokeiteita. 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 syvälle 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	Erityistä 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 geenimanipulaatio 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 in vitro - olosuhteissa.
osahanke 2 geenimanipulaatio in vivo	hiiri	-, projekti ei toteutunut	200/ 9	kohtalainen / kohtalainen tai lievä	-	käytetään vaihtoehtoisia menetelmiä aina kun mahdollista sekä testataan käytettävät manipulaatiot huolellisesti in vitro - 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: Tiivistelmä 85-2014		
Hankkeen nimi	Uusien lääkeaineiden kipua lievittävän tehon tutkiminen jyrsijöissä	
Hankeluvan kesto	3 vuotta	
Avainsanat	Krooninen kipu, neuropatia	
Hankkeen tarkoitus	Perustutkimus	Ei
	Translaatio- tai soveltava tutkimus	Kyllä
	Lakisääteinen käyttö ja rutiinituotanto	Ei
	Ympäristönsuojelu ihmisten tai eläinten terveyden tai hyvinvoinnin vuoksi	Ei
	Lajien säilyttäminen	Ei
	Korkeamman asteen koulutus tai ammattitaito-ope- tus	Ei
	Oikeuslääketieteelliset tutkimukset	Ei
	Geneettisesti muunnetun kolonian ylläpito	Ei
Hankkeen tavoitteet (esim. tie- teellinen 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 voisi- vat hyötyä hankkeen tuloksista)	Uusien tehokkaampien ja turvallisempien kipua lievittävien lääkkeiden/hoitojen kehittäminen ja edesauttaminen näiden markkinoille saattamisessa, jotta hermovaurioperäisestä kivusta kärsiviä potilaita pystyttäisiin hoitamaan.	
Käytettävät eläinlajit ja eläin- määrät	Rotta 9300, hiiri 5700 eläintä	
Ennakoidut haitat eläimille, arvi- oidut vakavuusluokat, eläinten kohtalo toimenpiteen päätyttyä	Tutkimuksessa eläimille aiheutuu haittaa neuropatian aiheuttamisesta kemiallisesti ja mekaanisesti (kirurgisesti). Lisäksi haittaa aiheutuu tutkittavien aineiden annosteluista ja kipuherkkyyden mittaamisesta. Mittaukset ovat lyhytkestoisia/kynnyk-	

	<p>sellisiä 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
<p>1. Korvaaminen Miksi eläimiä on käytettävä tässä hankkeessa ja miksi korvaavaa menetelmää ei voi käyttää?</p>	<p>1. Replacement 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 kuuma-herkkyyttä 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 seuloitu 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 suu- relle määrälle eläimiä.</p>
<p>3. Parantaminen a) Perusteet eläinlajin valinnalle. b) Miksi valittu eläinmalli on paras tieteellisten tavoitteiden kannalta?</p>	<p>3. Refinement Kirjallisuudessa sekä tässä hankeluvassa kuvatut kosketus- ja kiputunnon herkistymisen tutkimiseksi käytettävät tutkimusmallit ovat validoitu hiirillä ja/tai rotilla. Kuvatut kivun tutkimus-</p>

<p>c) Miten eläimille aiheutettu haitta on tarkoitus minimoida?</p>	<p>mallit ovat kirjallisuudessa keskeisimmät/käytetyimmät ja validoiduimmat kivun poistoa (= analgeettinen teho) tai kliinistä tehoa kivussa mittaavat eläinmallit. Vaativammassa, 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 pääasiassa 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 vaativammassakin tutkimusmalleissa eläinten paino nousee normaalisti asianmukaisesti. Eläintöistä vuosien kokemuksen omaava ja koulutettu henkilöstö huolehtii eläinten lopettamisesta toimenpiteen päätyttyä, kulloisenkin osahankkeen tavoitteen saavutettua tai ennenaikaisesti lopetuskriteerien täytyttyä.</p>
<p>Hankkeesta ei tehdä / tehdään takautuva arviointi</p>	<p>KYLLÄ</p>

TIEDOT HANKKEEN TAKAUTUVAA ARVIOINTIA VARTEN & ARVIOINTI

Saapumispvm: 2.10.2017.

1 Hankkeen tavoitteiden saavuttaminen

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

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

2 Millaista haittaa?

Hankeluvassa ainoastaan osahankkeen 2 kolmoishermosärymalli 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 jyrsimistä. Liian suuri vaurio aiheuttaa todennäköisesti tunnottomuutta, ja mahdollisesti kutinaa. Eläimille on silloin luonteenomaista jyrsiä 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 liikuttelamatta ehjäksi jäävää suraalihermoa. 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	Erylistä aiheutettuun haittaan liittyen: esim. satunnainen/ toistuva, saatu vähemmän/ 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 johdettiin 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 jyrmistä – satunnaista ja saatu vähemmän	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.