



Karen Louise Thomsen
Århus Sygehus, Medicinsk Afd. V
Nørrebrogade 44,
8000 Århus C

J.nr.: 2014-15-2934-00997/KIBAN
18. februar 2014

Rådet for Dyreforsøg har på sit møde den 30. januar 2014 truffet følgende afgørelse:

Tilladelse

Dyreforsøgstilsynet har givet dig tilladelse til at udføre forsøg med rotter i en periode på 2 år fra den 21. februar 2014 til og med den 21. februar 2016, jf. lov om dyreforsøg¹.

Tilladelsen er givet som beskrevet i din vedlagte ansøgning, herunder 1 C-skema.

I øvrigt gælder følgende vilkår

I tilfælde af væsentligt påvirket almentilstand eller ved lidelsesvoldende komplikationer skal tilstanden straks afhjælpes, eller dyrene aflives.

Forsøgene må udføres på det angivne forsøgssted, med dertil hørende dyrestalde, som beskrevet i din vedlagte ansøgning.

Der skal føres en journal over forsøgene, jf. kapitel 4 i bekendtgørelse nr. 88 af 30. januar 2013 om dyreforsøg². Journalføringen skal ske i et Excel ark eller lignende efter bekendtgørelsens bestemmelser.

Udover ansvaret for forsøgenes udførelse har du også ansvaret for staldes og forsøgslokalers indretning og drift samt dyrenes pasning, journalføringen, uddannelse og træning af det personale, der er beskæftiget med henholdsvis dyreforsøg og forsøgsdyrs pasning, jf. lovens § 3, stk. 4, da der ikke er søgt om og opnået anden ansvarsplacering efter § 2, stk. 3.

¹ Lov om dyreforsøg, jf. lovbekendtgørelse nr. 253 af 8. marts 2013 med senere ændringer

² Fødevareministeriets bekendtgørelse nr. 88 af 30. januar 2013 om dyreforsøg.

Gebyret for denne tilladelse udgør i alt

2.500 kr. og efterfølgende 500 kr. om året.

Der vil fra Økonomistyrelsens Service Center (ØSC) blive fremsendt et indbetalingskort, som bedes benyttet ved indbetalingen. Såfremt anden indbetalingsform anvendes, bedes sagsnummer 2014-15-2934-00997 anført.

Opkrævning af gebyret sker i henhold til bekendtgørelse om betaling af gebyr for tilladelse til dyreforsøg³.

Forsøgsdyrsveterinær

Dyreforsøgstilsynet har underrettet den tilsynsførende forsøgsdyrsveterinær om denne tilladelse, jf. § 53 i bekendtgørelse om dyreforsøg⁴.

Med venlig hilsen

f. Christian Lundblad

Kirsten B. Andersen



³ Fødevareministeriets bekendtgørelse nr. 715 af 1. august 1994 om betaling af gebyr for tilladelse til dyreforsøg

⁴ Fødevareministeriets bekendtgørelse nr. 88 af 30. januar 2013 om dyreforsøg.

Regenerationsevnen efter hepatektomi hos rotter med non-alkoholisk fedtlever – Karen Louise Thomsen

Status for ansøgning: Godkendt (15. februar 2014)

Den samlede ansøgning indeholder:

Afsnit A

Afsnit B

Oprettede Afsnit C-skemaer:

C 1

Oprettede Afsnit D-Skemaer:

Oprettede Afsnit E-Skemaer:

Oprettede Afsnit F-Skemaer:

Oprettede Afsnit G-Skemaer:

Skemaer for onkologiske undersøgelser:

Bilag:

Beskrivelse:

Forsøgsoversigt

DYREFORSØGSTILSYNET
 Stationsparken 31
 2600 Glostrup
 Telefon: 7227 6900
 E-mail: dyreforsogstilsynet@fvst.dk
 Hjemmeside: www.dyreforsogstilsynet.dk

**ANSØGNING OM
 TILLADELSE TIL AT FORETAGE DYREFORSØG
 i medfør af lov om dyreforsøg, jfr. lovbekendtgørelse nr. 726
 af 9. september 1993 som ændret ved lov nr. 1081 af 20.
 december 1995**

Regenerationsevnen efter hepatektomi hos rotter med non-alkoholisk fedtlever

Sag nr.: 2014-15-2934-00997

(udfyldes af Dyreforsøgstilsynet)

Afsnit A: OPLYSNINGER OM ANSØGEREN

Ansøgeren:	Navn	Karen Louise Thomsen					
	Stilling	Læge					
Arbejdssted:	Institution/virksomhed	Medicinsk afd. V, Aarhus Universitetshospital					
	Adresse	Nørrebrogade 44					
	Postnummer og By	8000 Århus C					
	Telefon	78463897	Fax	78462740			
	E-mail	karethom@rm.dk					
Ansøgerens uddannelse:	Art:	Årstal:					
	Cand. med.	2002					
	Ph.d.	2012					
Vigtigste tidligere ansættelser og supplerende uddannelser, herunder erfaring med dyreforsøg	Ansøgeren har selvstændigt og som vejleder foretaget talrige dyreforsøg, både før, under og efter PhD-studiet. Desuden har ansøgeren opnået erfaring med dyreforsøg under forskningsophold på Storr Liver Unit, Sydney, Australien. Arbejdspladsen: EAN 5798002769647 CVR/SE: 29762929						
Deltagelse i kursus i forsøgsdyrskundskab:	<input checked="" type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nej	År	2009	Sted	Århus Universitet	Varighed	80 timer
Tidligere meddelt tilladelse til dyreforsøg:	<input checked="" type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nej	Seneste dato	5. december 2013		J.nr.	2013-15-2934-00971	

Afsnit B: OPLYSNINGER OM FORSØGSSTED

(udfyldes af Dyreforsøgstilsynet)

Forsøgssted:	Institution/virksomhed	Fakultetsdyrestalden, Århus Universitet	
	Adresse	Bartholinbygningen	
	Postnummer og By	8000 Århus C	
	Telefon	89421729	Fax
	E-mail	ud@mikrobiologi.au.dk	
Hvor påtænkes dyrene opstaldet ?	I fakultetsstalden. Den ansvarlige for staldes og forsøgslokalers indretning er daglig leder Ulla Dansberg. Dyreforsøgene vil blive udført af ansøger, forskningsårsstuderende og PhD studerende med hver 40 timers dyreforsøgskursus, bioanalytiker deltager som medhjælper (ligeledes gennemgået 40 timers dyreforsøgskursus).		
Hvilket personale skal passe dyrene, og hvilken baggrund har dette herfor ? (kontaktperson kan evt. anføres)	Dyrenes pasning varetages af dyrepassere i fakultetsstalden under ledelse af Ulla Dansberg (daglig leder, ud@mikrobiologi.au.dk). Tilsynet med dyrenes velfærd varetages af dyrlæge Frederik Dagnæs.		
Kort beskrivelse af, i hvilket omfang andre deltager i forsøgenes udførelse ?	PhD studerende med 40 timers dyreforsøgskursus vil deltage i forsøgene. Bioanalytiker deltager som medhjælper (gennemgået 40 timers dyreforsøgskursus). Forskningsårsstuderende forventes gennemført 40 timers dyreforsøgskursus inden start.		
Hvilke foranstaltninger er der truffet vedrørende veterinær rådgivning og behandling ?	Der er truffet aftale med dyrepassere om, at dyr der lider eller på nogen måde mistrives, slæes ned. Der er ansat dyrlæge i fakultetsstalden (Frederik Dagnæs fdh@mikrobiologi.au.dk), som dagligt er til rådighed.		
Dato 15. februar 2014	Ansøgerens underskrift		

Afsnit C-skema nr. C 1

Der skal anvendes et sæt afsnit C-skema for hver forsøgstype/forsøgsrække

Beskriv forsøget generelt: (Denne del af ansøgningen skal kunne forstås af ikke fagfolk og skal omfatte: A) En beskrivelse af forsøgets formål. B) En redegørelse for, at tilsvarende viden kun kan opnås ved anvendelse af levende dyr (B1) og ikke kan opnås ved mindre belastende undersøgelser (B2) eller ved anvendelse af færre dyr (B3). C) En kort redegørelse for antagelsen om, at forsøget er til væsentlig gavn. D) En beskrivelse af samtlige indgreb, der ønskes foretaget på dyrene, herunder en udførlig beskrivelse af den belastning, dyrene herved udsættes for.)

BAGGRUND: Tilstanden 'non-alcoholic fatty liver disease' (NAFLD) skyldes ophobning af fedt i leverceller og forekommer i forskellige sværhedsgrader fra fedtlever til den mere alvorlige 'non-alkoholiske steatohepatitis' (NASH: fedtlever med betændelse og arvævsdannelse). Patienter med fedtlever ser ud til at have en god prognose, hvorimod patienter med NASH har øget risiko for at udvikle skrumpelever, leversvigt og leverkræft. Hos patienter med primær leverkræft eller med levermetastaser fra f.eks. kræft i tyktarmen er kirurgisk fjernelse af knuderne den bedste behandling med kurativt sigte. Patienter med fedtlever har en øget forekomst af komplikationer og dødelighed efter fjernelse af en del af leveren sammenlignet med leverraske. Hos patienter med skrumpelever ved man, at leverens regenerationsevne efter operation (hepatektomi) er stærkt nedsat sammenlignet med leverraske patienter. Om leverens regenerationsevne er påvirket hos patienter med NASH vides ikke.

A) FORSØGETS FORMÅL: Vi ønsker at undersøge leverens regenerationsevne hos rotter med forskellige grader af NASH efter fjernelse af 70% af leveren (70% hepatektomi). Desuden ønsker vi at undersøge leverens evne til at omdanne sukkerstoffet galaktose før og efter hepatektomi som udtryk for den fungerende levermasse.

NAFLD/NASH dyremodel: Ved at give rotter foder med højt indhold af fedt og kolesterol er det muligt at fremkalde fedtophobning og udvikling af en betændelsestilstand i leveren. Efter 2 ugers fodring udvikler rotterne fedtlever og efter 4 uger udvikler sygdommen sig til en let grad af NASH. Efter 16 uger ses udtalte NASH forandringer og begyndende bindevævsdannelse.

Galaktose eliminations kapacitet (GEC): GEC er en undersøgelse til at undersøge leverfunktion, hvor man måler leverens evne til at omdanne sukkerstoffet galaktose. Ved indgift i en blodåre fordeles galaktosen i organismen og omdannes udelukkende i leveren til glukose. Ved at bestemme faldet i galaktose koncentrationen i blodet fås et udtryk for den fungerede levermasse.

B1) Det er nødvendigt at benytte levende forsøgsdyr, da vi ønsker at fremkalde fedtlever vha. en speciel diæt og siden udføre en operation, hvor der fjernes 70% af leveren. Derfor er det ikke muligt at benytte cellekulturer eller computermødelser som alternativ til forsøgsdyr.

B2) For at kunne vurdere leverens regenerationsevne kræves, at der udtages et større stykke levervæv, hvilket ikke er forsvarligt at udføre på mennesker. Vi gennemfører studiet med de for dyrene mindst belastende metoder og overholder internationale og nationale standarder for dyrevelfærd i dyreforsøg.

B3) Vi ønsker at gennemføre forsøg med i alt ca. 200 rotter. Antallet af dyr er sat så lavt som den statistiske styrke tillader. Herved forstås at resultaterne ville præges af tilfældigheder, såfremt der anvendes færre dyr. Der er desuden ilagt en lille 'buffer', så vi sikrer os at resultaterne ikke bliver uanvendelige, hvis et enkelt dyr skulle dø før forsøgsafslutning.

C) VÆSENTLIG GAVN: 10-25% af befolkningen har fedtlever, hvoraf en stor del skyldes overforbrug af alkohol. Derudover forekommer fedtlever også i forbindelse med overvægt, fedme og type 2 diabetes. Forekomsten af fedme og diabetes er kraftigt stigende i den vestlige verden og leversygdomme relateret til NAFLD/NASH er nu anset som en vigtig årsag til øget sygelighed og død. Det er af stor vigtighed at kunne forudsige leverens regenerationsevne og graden af reduktion af den funktionelle levermasse hos NASH patienter, som skal have fjernet en del af leveren i forbindelse med operation for kræft. Den viden vi opnår fra forsøgene, vurderer vi vil være os til væsentlig gavn i forhold til vurderingen af, om kirurgisk behandling er tilrådelig hos NASH patienter.

D) BESKRIVELSE AF INDGREB: Rotterne opstaldes 3 i hvert bur. Rotter vil blive givet foder med højt indhold af fedt og kolesterol i henholdsvis 4 og 16 uger, kontrolgrupper vil blive givet standard foder. Denne diæt er tidl. set ikke at påvirke rotternes almentilstand. Der forventes ingen dødelighed. Efter hhv. 4 og 16 uger foretages et kirurgisk indgreb på bedøvede rotter hvor 70% af leveren fjernes. Rotterne vækkes efterfølgende under smertedække som beskrevet nedenfor. Indgrebet forventes at medføre moderat ubehag for dyrene, afhjælpes med smertestillende medicin. Dyrene går herefter i hhv. 2 eller 5 dage hvorefter de bedøves og der 1) foretages en galaktosebelastning (GEC) eller 2) udtages blod og levervæv. Dyrene bedøves med et sovemiddel (Dormicum) og et smertestillende middel (Hypnorm). Galaktosebelastningen tager ca. 1,5 time. Først fjernes nyrerne, hvorefter der anlægges drop i et blodkar i lysken, hvori der indgives galaktose over 1 time. Hvert 10. minut tages en blodprøve fra blodkar, der ligger bag øjenæblet. Udtagelsen af blod og levervæv tager ca. 10 minutter. Efter endt undersøgelse aflives dyrene på en human måde i fuld anæstesi. Dyrene aflives eventuelt tidligere i forløbet, hvis der tilstøder tegn på smerte eller andre uforudsete bivirkninger.

Dyrevelfærd: Rotterne bliver overvåget i hele diæt-perioden, denne overvågning intensiveres efter det kirurgiske indgreb, hvor rotterne overvåges konstant de første 3 timer og derefter efter 6 timer. Rotterne vil blive aflivet ved tegn på dårlig almentilstand.

Se desuden vedhæftede forsøgsoversigt.

Skyldes forsøgene krav fra myndighed, som led i godkendelse af stof eller produkt? ☐ Ja ☒ Nej

– hvis "Ja", beskriv nærmere:

Beskriv forsøgets type, art og forløb, herunder de planlagte indgreb og påvirkning af organfunktioner:

(Der vedlægges evt. forsøgsprotokol. Der angives og begrundes, hvorvidt de givne oplysninger skal hemmeligholdes.)

Vi ønsker at benytte en dyremodel for fedtlever, hvor rotter bliver givet foder med højt indhold af fedt og kolesterol. Efter 4 uger udvikler dyrene begyndende NASH og efter 16 uger udtalte NASH forandringer. En kontrolgruppe vil blive givet standard foder. Dyrenes tilstand vurderes dagligt. Observationen omfatter dyrenes almentilstand i form af strittende pels, isolation fra gruppen af rotter og nedsat aktivitetsniveau, hydreringsgrad, tegn på diarré, vægttab (dyrene vejes to gange ugentligt indtil aflivning) samt smerteadfærd. Der udarbejdes et skema, som dyrepasserne dagligt benytter. Tilslus hyppigt af dyrlæge. Dyrene går i dyrestalden i hhv. 4 og 16 uger og alle dyr i interventionsgruppen forventes at udvikle NASH.

Efter hhv. 4 og 16 uger foretages fjernelse af 70% af rottens levervæv (hepatektomi). På bedøvede rotter åbnes abdomen med en ca. 4 cm. lang tværgående incision over leveren. Den mediane og venstre laterale leverlap underbindes og fjernes. Abdomen lukkes herefter i 2 lag, enkelt suturer. Rotterne vækkes under smertedække som beskrevet nedenfor. Rotterne overvåges konstant de første 3 timer efter indgrebet. Tilslus herefter igen efter 6 timer.

Efter hhv. 2 eller 5 dage bedøves rotterne og inddeles i to grupper. I den ene gruppe foretages en galaktosebelastning (GEC). Ved undersøgelsen fjernes nyrerne retroperitonealt, hvorefter der anlægges drop i et blodkar i lysken, hvori der indgives galaktose over 1 time. Hvert 10. minut tages en blodprøve fra det retrobulbære venøse plexus. I den anden gruppe udtages blod og levervæv over ca. 10 min.

Efter endt undersøgelse aflives dyrene på en human måde i fuld anæstesi. Dyrene aflives eventuelt tidligere i forløbet, hvis der tilstøder tegn på smerte eller andre uforudsete bivirkninger.

Blodprøve analyser: Plasma koncentrationer af alanine aminotransferase (ALAT), aspartate aminotransferase (ASAT), bilirubin, koagulationsfaktorer (PP), blod koncentration af galaktose, serum koncentrationer af albumin og alfa-2-macroglobulin.

Levervæv: Histologisk vurdering af graden af steatose og inflammation (HE farvning) samt udviklingen af fibrose (Masson trichrom). Stereologisk undersøgelse mhp. vurdering af regenerationsevnen. Undersøgelse af genekspressionen for alfa-2-macroglobulin, pro-inflammatoriske cytokiner TNF-alfa og IL-6, pro-fibrogene mediatorer kollagen type 1, alfa og connective tissue growth factor (CTGF) ved hjælp af kvantitativ PCR.

Se desuden vedhæftede forsøgsoversigt.

Der er ikke grundlag for at hemmeligholde ovenstående oplysninger.

Belastningsgraden:

Ubehag Moderat

– beskriv: Moderat ubehag forventes efter operation, intet ubehag i forbindelse med kostindtag.

Lidelse Moderat

– beskriv: Moderat lidelse efter operation, afhjælpes med smertestillende medicin.

Smerte Let

– beskriv: Let smerte i forbindelse med indgift af subkutan bedøvelse. Dyrene behandles med smertestillende medicin efter operationen.

Påvirket bevægelsesfrihed ☐ Ja ☒ Nej

– hvis "Ja", beskriv:

Påføres varigt mén ☒ Ja ☐ Nej

– hvis "Ja", beskriv: Udvikler fedtleverbetændelse, fjernelse af en del af leveren, aflives.

Belastningens varighed Kortvarigt

Varighed 17 Uger

Aflives i bedøvelsen (uden på noget tidspunkt at være vågnet op efter forsøgets indledning): ☐ Ja ☒ Nej

Beskriv den anvendte anæstesi for hver dyreart:

Operationen mhp. fjernelse af levervæv foretages i inhalations-anæstesi med 2–3% Isofluran (Forene®). Forsøgsdyrene holdes varme vha. varmepude i forbindelse med indgrebet. Galaktosebelastning og udtagning af blod og levervæv foregår i fuld anæstesi med s.c. fluanison + fentanyl (Hypnorm®) og midazolam (Dormicum®).

Beskriv den påtænkte smertebehandling og anden lindrende behandling for hver dyreart:

Inden operationen vil dyrene modtage en indsprøjtning under huden med langtidsvirkende NSAID, 5 mg/kg Carprofen (Rimadryl®), så der er sikret smertedækning under opvågning. Herudover gives injektion med 2 mL saltvand under huden til erstatning af evt. væsketab under operation. Carprofen (Rimadryl®) vil desuden blive tilsat drikkevandet de første 3 dage postoperativt til dækning af eventuelle smerter. Der føres grundigt eftersyn med at dyrene drikker og dermed er smertedækkede. Hvis de ikke drikker sufficient vil det smertestillende medicin blive indgivet under huden.

Angiv de velfærdsmæssige kriterier (humane endpoints) for afbrydelse af forsøget for hver dyreart:

Ved tegn på smerte, lidelse eller væsentlig nedsat almentilstand med strittende pels, isolation fra gruppen af rotter, nedsat aktivitetsniveau eller andre tegn på stress aflives dyrene straks på en human måde. Ved tegn på mistrivsel med >10 % væggtab igennem 3–4 døgn i forbindelse med diæten vil dyrene ligeledes blive aflivet.

Angiv aflivningsmetoden for hver dyreart:

Dyrene aflives ved cervikal dislokation i bedøvet tilstand eller med en overdosis anæstesimiddel (i.p. pentobarbital tilsat lidokain), hvis forsøget afbrydes før tid.

Beskriv pasningen af og tilsyn med dyrene, herunder særlige foranstaltninger ved tilsyn:

Dyrene passes af uddannede dyrepassere i stalden. Der udarbejdes et skema, som dyrepasserne dagligt benytter, mhp. monitorering af adfærd og almentilstand samt vægt to gange ugentligt. Der er hyppige tilsyn af dyrlæge. Efter det kirurgiske indgreb overvåges rotterne konstant de første 3 timer og derefter efter 6 timer. Rotterne vil blive aflivet ved tegn på dårlig almentilstand.

Dyreart og antal pr. år:

(Der ønskes en redegørelse for valget af dyreart. Såfremt der påtænkes anvendt genetisk modificerede dyr, skal der indgives særskilt ansøgning herom i henhold til lov om kloning og genmodificering af dyr, mv. Ansøgeren skal i så fald anvende et G-skema for hver variant. Såfremt der påtænkes anvendt klonede dyr, skal indgives særskilt ansøgning herom i henhold til lov om kloning og genmodificering af dyr mv. Ansøgeren skal i så fald anvende et F-skema for hver gruppe af klonede dyr.)

Der anvendes Wistar rotter af hunkøn. Det anslås, at der i alt vil blive brugt ca. 200 rotter. Rotten er valgt som model, da udvikling af non-alkoholisk fedtlever er en veletableret metode i denne dyreart.

Ønsket varighed af tilladelsen til det beskrevne forsøg angivet i antal år: 2

– begrund:

Forventes afsluttet efter 2 år som led i forskningsårsprojekt.

Der kan medsendes en redegørelse med begrundelse for, hvorfor ansøgeren finder, at betingelserne i offentlighedslovens §§ 12 og 13 for at nægte aktindsigt er tilstede.