



## Dyreforsøgstilsynet

Professor, forskningsoverlæge Søren Kragh Moestrup  
Inst. for Medicinsk Biokemi, Århus Universitet  
Ole Worms Allé, bygn. 1170  
Universitetsparken  
8000 Århus C

Dato: 9 - DEC 2010  
Sag nr.: 2010/561-1918  
Dok.: JGA41353  
EAN nr.:

Rådet for Dyreforsøg har på sit møde den 25. november 2010 truffet følgende afgørelse:

I medfør af lov om dyreforsøg, jfr. lovbekendtgørelse nr. 1306 af 23. november 2007, meddeler Dyreforsøgstilsynet Dem herved for et tidsrum af 3 år tilladelse til at udføre forsøg med rotter som beskrevet i Deres vedlagte ansøgning, herunder skema C-1. 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 Århus Universitets sundhedsvidenskabelige fakultet, og på Skejby Sygehus, således at dyrene opstaldes i de hertil hørende dyrestalde.

Der skal føres en journal over forsøgene, jfr. Justitsministeriets bekendtgørelse nr. 1273 af 12. december 2005 om føring af journal over dyreforsøg samt kloning og genmodificering af dyr. Journalføringen kan enten ske ved hjælp af EDB efter et af Dyreforsøgstilsynet godkendt system eller i en af Dyreforsøgstilsynet autoriseret protokol (DAFOLO, bestillingsnummer 80856205).

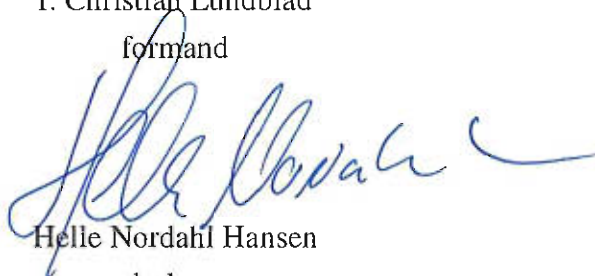
Udover ansvaret for forsøgenes udførelse har De også ansvaret for staldes og forsøgslokalers indretning og drift samt dyrenes pasning og journalføringen, jfr. lovens § 3, stk. 3, da der ikke er søgt om og opnået anden ansvarsplacering efter § 2, stk. 2.

Efter Justitsministeriets bekendtgørelse nr. 715 af 1. august 1994 om betaling af gebyr for tilladelse til dyreforsøg udgør gebyret for denne tilladelse 2.500 kr. Der vil fra Økonomistyrelsens Service Center (ØSC) blive fremsendt et indbetalingskort, som bedes benyttet ved indbetalingen. Såfremt anden indbetalingsform anvendes, bedes sagsnummer 2010/561-1918 anført.

Dyreforsøgstilsynet har underrettet fakultetsdyrlægen om denne tilladelse, jf. § 35 i Justitsministeriets bekendtgørelse nr. 997 af 16. august 2010 om forsøgsdyrs pasning og opstaldning.

P.d.v.

f. Christian Lundblad  
formand



Helle Nordahl Hansen  
dyrlæge

## 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 saintlige indgreb, der ønskes foretaget på dyrene, herunder en udførlig beskrivelse af den belastning, dyrene herved udsættes for.)

A) Formålet med forsøget er at undersøge om det er muligt at dæmpe et immunrespons induceret af lipopolysaccharide (LPS), der er et kendt endotoxin anvendt til hurtigt at inducere immun-systemet i rotter. LPS fremmer sekretionen af såkaldte pro-inflammatoriske cytokiner i mange celler typer, specielt celler af typen makrofager. Samme mekanisme er involveret i mange autoimmune sygdomme og LPS modellen vil således i nogen udstrækning kunne anvendes til karakterisering af lægemidler udviklet til at dæmpe en autoimmun reaktion. LPS studier i rotter vil kunne gennemføres i løbet af få dage og derved med fordel supplere og/eller afløse længere studier i dyremodeller for autoimmune sygdomme som f.eks. rheumatoid arthritis. Den specifikke optagelse af lægemidlet i makrofager skal ske gennem konjugering af lægemidlet til et antistof, der binder til en receptor på overfladen af makrofag cellen – denne receptor hedder CD163. Disse lægemidler skal dermed dæmpe det immunologiske respons induceret af LPS i rotter. De lægemidler der tænkes anvendt vil være lægemidler der modulerer makrofagerne til at udvise en antiinflammatorisk type, såsom glucocorticoider. Ydermere er det velkendt at svær infektion og inflammation kan medføre en u hensigtsmæssig stor nedbrydning af kroppens muskelmasse, med svækkelse og nedsættelse af overlevelse muligheden til følge. Tidligere forskning har vist at det sidste led i omsætningen af proteiner, dvs. leverens dannelse af urinstof, spiller en rolle i dette tab af muskelmasse. Vi vil med dette studie yderligere undersøge nedbrydning af muskelmasse i rotter hvor inflammation er fremkaldt ved injektion af LPS. Ydermere er det kendt at omend glucocorticoider har en generel antiinflammatorisk effekt medfører de også en øgning i nedbrydning af muskelmasse. Denne effekt af glucocorticoider er systemisk og vi formoder at de konjugater med specifik behandling af macrophager med glucocorticoid vi anvender, vil kunne reducere inflammationen og samtidig undgå øget nedbrydning af muskelmasse. Vi ønsker således at måle niveauet af urinstofsyntesen i dyr hvor vi har induceret inflammation ved injektion af LPS og behandlet disse med glucocorticoid, enten systemisk eller specifikt leveret.

B) Det system, der påvirkes er så relativt komplekst at et endeligt bevis for at lægemidlet virker og rammer de ønskede celler nødvendigvis må foregå i dyr, selvom en del indledende arbejde kan gøres i reagensglas på celler isoleret fra aflivede dyr eller rekombinante celler der udtrykker CD163. I dette studie undersøges både et systemisk inflammatorisk respons og en såkaldt metabolisk (stofskifte) proces/bivirkning hvilket kræver et levende dyr/individ. For at kunne belyse mekanismer der forårsager ændringer af urinstofsyntesen kræves at der post mortem udtages et større stykke levervæv.

B2) LPS modellen er kun let belastende for dyrene og fremkalder ikke sygdom, under de sidste undersøgelser af leverfunktion vil dyrene være bedøvede og aflives under denne bedøvelse. B3) Der planlægges at have 5–6 dyr i hver gruppe, vurderet på basis af den effekt der forventes samt spredning på effekt

C) Udvikling af en sikker glucocorticoid behandling med færre bivirkninger vil potentielt have stor betydning både for patienter med kronisk og med akut inflammation. Muskelmasse nedbrydning er en kendt og meget alvorlig bivirkning ved glucocorticoid og følge af inflammation, og en undersøgelse af om dette kan undgås ved brug af specifik levering af glucocorticoid til macrophager er essentielt for at karakterisere denne nye behandlingsmetode.

D) Dyrene vil blive injiceret med LPS, der inducerer et immunrespons som i nogen udstrækning modsvarer immunresponsen hos patienter med autoimmune sygdomme. Det inducerede immunrespons vil forsøges dæmpet ved injektion af vores målrettede lægemidler samt de tilsvarende lægemidler uden målretning. Herefter bliver et hold dyr bedøvet efter 4 timer og et efter 24 timer. Fra hver af disse hold dyr bliver der i to separate hold, under fuld anæstesi, taget blod samt levervæv fra og urinstofsyntesens kapacitet bliver undersøgt. Ingen af disse indgreb påfører dyrene gener. Efter disse undersøgelser bliver dyrene aflivet under fortsat fuld anæstesi. Halvdelen af kontroldyrene i dette studie bliver 24 timer før forsøget fodret med en mængde foder der svarer til hvad de dyr der blevet behandlet med LPS og/eller glucocorticoid indtager.

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.)

Dyrene injiceres enten intravenøst eller intraperitonealt med lipopolysaccharide (LPS) i doser fra 1–1.5 mg/kg (i.v.) eller 2.5 mg/kg (i.p.), hvilket inducerer immunsystemet til at producere pro-inflammatoriske cytokiner, der også er involveret i autoimmune sygdomstilstande. Intravenøs injektion af lægemidlet vil finde sted enten før, under eller efter injektion af LPS. Dyrenes almene tilstand følges under hele forsøget, der forløber over få dage. Blodprøver udtages ved at øjebloed eller venøst haleblod tages fra dyrene.

Efter indsprøjtning med LPS går dyrene i 4 eller 24 timer. Herefter bedøves dyrene og et af følgende indgreb bliver foretaget: Enten udtagelse af lever væv/blod: tager ca. 10 minutter. Dyrene aflives herefter i fuld anæstesi. Eller undersøgelse af urinstofsyntesens kapacitet: tager ca. 1 ½ time. Ved undersøgelsen fjernes nyrerne og der lægges en kanyle i et kar i lysken hvor der gives væske med en aminosyre 'alanin' i alt en time. Hvert tiende minut tages blodprøver fra blodkar der ligger bag ved øjebloed. Dyrene aflives herefter i fuld anæstesi. Rotter anæsteseres med isofluran ved intravenøs injektion og blodprøvetagning og Hypnorm–Dormicum. ved operative indgreb.

**Belastningsgraden:**

Ubehag Let – beskriv: Den inducerede autoimmun lignende tilstand kan meget kortvarigt være ubehagelig for dyrene, og kan påvirke deres generelle velbefindende

Lidelse Ingen – beskriv: Ingen

Smerte Ingen – beskriv: Ingen akut smerte, da dyrene vil være bedøvede når de håndteres under processer der påfører smerte

Påvirket bevægelsesfrihed ☐ Ja ☒ Nej – hvis "Ja", beskriv:

Påføres varigt mén ☐ Ja ☒ Nej – hvis "Ja", beskriv:

Belastningens varighed Meget kortvarigt

Varighed 2–5 Døgn

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

**Beskriv den anvendte anæstesi for hver dyreart:**

Dyrene bedøves endten med Hypnorm–Dormicum 1.5 mg/100 g (I.P.) (operation)eller med isofluran (blodprøve og injektioner)

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

Dyrene vil opleve en lettere kortvarig irritation som følge af den inducerede tilstand efter injektion af LPS, men tænkes ikke at opleve en egentlig smerte andet end under håndtering, hvor de i de givne trin vil være bedøvede

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

Ved tegn på mistvivl såsom manglende spise, drikke-lyst, nedsat aktivitetsniveau eller væsentlig vægttab hos dyrene aflives disse øjeblikkeligt

**Angiv aflivningsmetoden for hver dyreart:**

Rotter aflives ved indgift af en dødelig dosis af Hypnorm/dormicum og efterfølgende cervikal dislocation under fuld anæstesi.

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

Dyrene passes af det uddannede personale i Dyrestalden i Bartholin bygningen, Aarhus universitet

**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 ønskes tilladelse til at anvende op til 100 rotter per år. Vi ønsker at bruge rotter, da vi har et validt anti-rotte CD163 antistof, som kan konjugeres med de ønskede lægemidler og da vi har etableret metoder til at måle urinstofsyntesen i rottevæv.

Ønsket varighed af tilladelsen til det beskrevne forsøg angivet i antal år: 3

– begrund:

Processen med udvikling af lægemidlet vil til en vis grad være iterativ, og optimerede versioner kan blive påkrævet testet.

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

**C 1**