

ANSÖKAN -etisk prövning av djurförsök

Datum

100216

Denna blankett är fastställd av Centrala försöksdjursnämnden (CFN) den 28 september 2001.
Vägledning för att fylla i blanketten finns att hämta på Jordbruksverkets webbplats (www.sjv.se).
Ansökan lämnas till den djurförsöksetiska nämnd inom vars verksamhetsområde det planerade djurförsöket ska utföras.

Linköpings djurförsöksetiska nämnd
Ink. 25 / 2 7 10
Dnr 48-10

☐ I ansökan bör med motivering anges vilka uppgifter som enligt sökanden kräver sekretess

Uppgifter om sökanden (försöksledaren)

Namn		
Institution, avdelning eller motsvarande Linköpings universitet, Hälsouniversitetet, IKE, Ortopedi		
Telefonnummer (även riktnr)	Faxnummer (även riktnr)	E-mail
Adress Hälsouniversitetet, Ortopedicentrum		Postadress 581 85 Linköping

Ansökan är en fortsättning av tidigare prövade försök

Diarienummer
19-08, 65-08, 34-09

- ☐ Försöket avser framställning av genetiskt modifierade djur
- ☐ Försöket avser användning av genetiskt modifierade djur

Försöksledarens klassificering av försökets svårighetsgrad (endast ett alternativ skall anges)

- ☐ Ringa svårighetsgrad ☒ Måttlig svårighetsgrad ☐ Avsevärd svårighetsgrad

Uppgifter om det planerade djurförsöket

Sidorna 1-3 i ansökningsblanketten fylls i av den sökande. OBS! Vid uppgiftslämnandet skall ett enkelt språk användas. Viktigt är också att tillräckliga uppgifter lämnas för den djurförsöksetiska nämndens bedömning av försöket.

1. Projektets titel

Effekter av mekanisk belastning på läkande senvävnad: Organisation och uppbyggnad.

2. Syftet med djurförsöket och eventuell redovisning av tidigare resultat

Vi vill studera hur mekanisk belastning påverkar den läkande vävnaden på mikroskopisk nivå, under olika faser av senläkningen. Våra tidigare studier har visat att kontrollerad mekanisk belastning påskyndar läkningen och att mekanisk stimulering har en positiv effekt både tidigt och lite senare under läkningsprocessen. I de tidigare studierna har vi endast analyserat senorna mekaniskt. För att styrka dessa resultat och för att få bättre kunskap om den mekaniska belastningens effekter vill vi nu studera läkningsvävnaden uppbyggnad och struktur med hjälp av histologi.

För att få detaljerade kunskaper om sambandet mellan mekanik och biologi vid olika skeden av läkningen måste vi kunna studera effekten av enstaka, avgränsade belastningar och hur dessa episoder inverkar under olika skeden av läkningen. Detta kan vi endast göra genom att avlasta en period för att sedan introducera belastning. Därför måste senan vara obelastad mellan träningarna. Vi har därför valt att använda en beprövad teknik som är vanlig vid studier av belastningens betydelse för benvävnad, nämligen svansavlastning. Denna teknik har också tidigare använts för studier av senor och ligament.

Den kliniskt medicinska relevansen av denna forskning beskrivs i förgående ansökningar.

3. Andra metoder än den valda

Uppgifter skall kortfattat lämnas om det finns andra metoder, med eller utan användning av djur, för att uppnå syftet med försöket

Vi har tidigare använt oss av Botoxinjektioner för att avlasta senorna, men denna modell har inte möjliggjort enstaka kvantifierade belastningstillfällen så som vi hoppats. Svansavlastning är en erkänd metod med internationell trovärdighet.

4. Dokumentationskrav

Om nationella eller internationella dokumentationskrav genom djurförsök föreligger, skall uppgifter som styrker behovet av försöket anges

5. Valet av djurart, ras och stam

Djurart Råtta	Totalt antal djur 40
Motivering för val av djurart med karaktärisering av djuren Råtta är standardmodellen för senläkningsstudier Avlastningsmodellen är utformad för råtta.	

6. Försökets tids- och genomförandeplan

Försöket beräknas påbörjas 100315	Försöket pågår t o m 130315
Beskrivning av försökets uppläggning och genomförande skall göras med tyngdpunkt på de ingrepp som görs, olika moments varaktighet m m Vi har tidigare studerat hur belastning förbättrar läkningen under de olika läkningsfaserna. Vi vill nu komplettera de resultat som vi tidigare sett med kompletterande och förklarande data från histologi och immunhistokemi. Vi vill studera hur vävnaden ser ut efter belastningen när den utövats mycket tidigt under läkningen samt lite senare. Till detta försök behöver vi 10 djur i varje grupp och sammanlagt 4 grupper. Djuren får vänja sig vid att springa på löpband innan försöket startar. Djuren sövs med isofluran enligt rutiner utvecklade av djuravdelningens veterinär. Huden över höger hälsena rakas. Ett 3 mm långt hudsnitt görs på tvären över senan. Huvuddelen av plantaris longussenan (bihang till akillessenan) tas bort. Akillessenan skärs sedan av, 3 mm av senan tas bort och sedan sys huden ihop. Svansavlastningen påbörjas dagen efter operation (dag 1). Svansavlastningen görs som i tidigare godkända försök: Råttan lindas in i en handduk under tiden man arbetar med dess svans. Svansen tvättas och rakas. En tejpremsa (skin-track) fästs på ena sidan av svansen från svansroten upp till 2/3 av svanslängden. Remsan viks över till andra sidan av svansen och fästs där ner till svansroten igen. Tejpremsan säkras genom att tejp viras runt svansen på tre ställen. Ett gem fastsatt i en plastbit som i sin tur sitter i tejpremsan på svansen fungerar som fästordning för avlastningen. En fiskelina fästs i gemet för att kunna avlasta råttans bakben. Under avlastningen är baktassarna strax ovan burgolvet och råttan kan stödja och förflytta sig med frambenen. Ett traverssystem placeras ovanpå buren. En stång kan flyttas i burens längdriktning med hjälp av skenor och hjul på burens överkant. Fiskelinan som råttan avlastas med fixeras till en anordning som gör det möjligt för råttan att röra sig utmed stången och även rotera. På detta sätt kan råttan röra sig i hela buren och i alla riktningar. Råttornas bakben avlastas i högst två veckor. 4 grupper med 10 djur i varje grupp kommer att ingå i försöket. 2 av grupperna avlastas och får komma ner och träna på löpbandet (hastighet 9 m/min) 30 min per dag. Resterande 20 djur är avlastade under hela försöket. Djuren avlivas dag 5 eller dag 14 efter operation genom en överdos av pentobarbitalnatrium i hjärtat under narkos. De läkande senorna plockas ut för att studeras histologiskt och med immunhistokemi. Grupper: Grupp 1 och 2 skall avlastas dag 1. Sedan får grupp 1 vara avlastad hela tiden, medan grupp 2 får komma ner en gång per dag och springa 30 min på löpband från dag 2 till och med dag 5. Båda grupperna avlivas dag 5, en kort tid efter att löpbandsgruppen sprungit färdigt. Dessa grupper är till för att studera effekten av	

mekanisk belastning under den första, inflammatoriska fasen av läkningen.

Grupp 3 och 4 skall avlastas dag 1. Sedan får grupp 3 vara avlastad hela tiden, medan grupp 4 får komma ner en gång per dag och springa 30 min på löpband från dag 11 till och med dag 14. Båda grupperna avlivs dag 14, en kort tid efter att löpbandsgruppen sprungit färdigt. Dessa grupper är till för att studera effekten av mekanisk belastning under läkningens tillväxtfas.

7. Vård och förvaring

Uppgifter skall lämnas dels om djurens vård och förvaring omedelbart före, under och omedelbart efter försöket, dels om vid vilken institution eller klinik förvaringen sker och var försöket skall utföras

Djuren förvaras på Hälsouniversitetets djuravdelning. Djuren bor en och en i specialbyggda burar (30 cm x 30 cm x 30 cm) i ett 24-gradigt rum. Råttorna får vänja sig vid de nya burarna innan försöket påbörjas. Föda och vatten kommer placeras på ett sådant sätt att djuren lätt kan tillgodogöra sig detta trots avlastningen. Vi har under tidigare försök noga studerat råttorna och sett att de inte har några problem med att anpassa ätmönstret till den nya situationen. Djuren har fri tillgång till föda och vatten under hela försökstiden. Vatten och mat vägs varje dag för att kontrollera att alla djuren äter och dricker. Bitpinnar och bomaterial kommer finnas i burarna. Djuren får daglig tillsyn, flera gånger per dag. Eftersom råttor är nattaktiva, kommer dygnsrytmen i rummet att ändras, så att det är ljust på natten och mörkt på dagen. Träningen sker då när råttorna har sin aktiva period.

8. Djurens situation och försökets slutpunkt

Beskrivning skall göras av den påverkan på djuren som väntas, eventuella komplikationer, smärtupplevelser, beteendeförändringar m m. Vidare skall motivering för klassificering av försökets svårighetsgrad lämnas (jämför s. 1)

Hälseavskärningsmodellen har använts med framgång av gruppen här i Linköping sedan 2002. Vi har inte sett tecken på smärtupplevelser. Infektioner har inte förekommit.

Djuren tittas till regelbundet; vid tecken på avvikande förlopp avlivs djuren omedelbart. Som avvikande förlopp räknas t.ex. viktnedgång mer än 10%, dålig pälskötsel, lågt födo/vattenintag eller infektioner.

Vi har med framgång använt svansavlastningsmodellen i tidigare försök här i Linköping, och modellen är väl beskriven i litteraturen, enligt följande:

Större råttor (>200g) förlorar ofta i vikt under de första dagarna av avlastningen. Unga råttor (<200g) kan öka i vikt långsammare än normalt de första dagarna. Våra råttor kommer att väga omkring 200g, eftersom mindre råttor verkar ha en annorlunda senläkning. Röda tårar runt ögon och nos kan förekomma men det försvinner normalt efter max tre dagar. Man har sett förhöjda kortisonnivåer som tecken på stress under första dygnet. Kortisonnivån normaliserades efter 1 dygn i en rapport och efter 2 dygn i en annan. Kortisonnivåerna uppvisar sedan en normal dygnsrytm, vilket talar för att råttorna inte upplever stress. Råttorna anpassar sig snabbare och trivs bättre i den beskrivna modellen än i äldre varianter av densamma, eftersom de kan förflytta sig fritt i buren.

Våra egna erfarenheter skiljer sig inte från vad som beskrivs i litteraturen: Råttorna har inga problem med att äta och dricka, de håller i maten med en framtass samtidigt som de gnager i sig maten, pipen på vattenflaskan sitter lågt i buren så de kommer lätt åt vattnet. De kan putsa i stort sett hela pälsen. Vilar gör de genom att lägga sig ner på bröstkorgen.

Det finns många studier där man låter råttor springa på löpband. Vi har med framgång använt löpband i fem tidigare försök (ansökan 19-08, 65-08, 94-08, 34-09, 70-09). Råttorna får vänja sig vid att springa på

löpbandet innan försöket startar. Råttor som eventuellt har svårt att vänja sig vid löpning utesluts ur studien. Ett löpband specialtillverkat för råttor användas. Efter Akillesseneavskärningen rör sig råttorna normalt obehindrat men med hálta, och bandhastigeten är vald så att råttan kan hålla ett lagom tempo. Det beräknas inte göra ont, människor med brusten Akillessena upplever normalt ostadighet men ingen smärta vid gång. Löphastigheten 9 m/min kommer användas vid all träning under försökets gång. Denna hastighet prövades ut under det första försöket (ansökan 19-08) och har fungerat bra.

Djuren avlivas 5 eller 14 dagar efter operationen.

9. Anestesi- och avlivningsmetoder

Användning av narkosmedel, bedövningsmedel, smärtlindrande medel och lugnande medel skall anges liksom avlivningsmetod som skall användas

Narkos vid operation: Isofluran

Pre- och postoperativ smärtlindring: Temgesic 30 min före operation samt postoperativt

Preoperativ antibiotika: Engemycin

Narkos vid avlivning: Dexdomitor och ketaminol

Avlivning Pentobarbitalnatrium

Underskrift sökande

Datum

19/2-10

Underskrift

Namnförtydligande

Underskrift ansvarig föreståndare enligt 20 § djurskyddslagen har utan erinran tagit del av det planerade djurförsöket

Datum

19/2-10

Underskrift

Namnförtydligande

Kompletterande uppgifter till ansökan

OBS! Om nya eller kompletterande uppgifter tillförs under ärendets beredning skall Dessa antecknas nedan genom beredningsgruppens försorg eller av den djurförsöksetiska nämnden

Beredningsgruppens förslag till nämndens ställningstagande

Förslår godkännande

2/3 2016

Datum

Underskrift

Ordförande i Linköpings
djurförsöksetiska nämnd

Datum

Underskrift

Namnförtydligande

Datum

Underskrift

Namnförtydligande

Datum

Underskrift

Namnförtydligande

Diarienummer

7(7)

Den djurförsöksetiska nämndens beslut (Om inte annat sägs i beslutet gäller detta under tre år från dagen för beslutet)



Godkänns



Avslås



Godkänns med följande villkor:

Datum

2010-03-11

Ordförandens underskrift

Namnförtydligande

Ordförande i Linköpings

djurförsöksetiska nämnd

Motivering och ev avvikande mening, se protokollet. I förekommande fall får man överklaga, se bilaga