

## Konferensrapport ICAR3R Kick-off symposium - Nya perspektiv i den tvärvetenskapliga 3R-forskningen. 18-19:e Oktober 2018, Gießen, Tyskland.

Konferensen hade ett mycket varierande innehåll med inspirerande presentationer om hur de 3R:en kan tillämpas på olika sätt. Konferensen anordnades av det nybildade 3R-centrumet ICAR3R vid Justus-Liebig-universitetet i Gießen. Det var omkring 100 deltagare. Från Sveriges 3R-center deltog Karen Erlbacher och Per E Ljung och vi presenterade en poster som sammanfattade vad Sveriges 3R-center har gjort det senaste året. Fokus för symposiet var hur tvärvetenskapliga ansatser kan främja genomslaget av de 3R:en i praktiken.

### Sammanfattning av presentationerna

Gerhard Püschel från Potsdams universitet pratade om utveckling av en cellbaserad analysmetod för att testa botulinumtoxinet aktivitet, istället för att använda ett test baserat på dödlighet hos möss (LD50) som nuförtiden används som standard för säkerhetstestning av botox. Testet kan även användas för olika serotyper av toxinet men behöver fortfarande valideras för att bli godkänd av läkemedelsmyndigheter som ersättningsmetod för säkerhetstestning utan djur.

Staphanie Krämer berättade om att ICAR3R håller på att utveckla en plattform, Live3R, där forskare kan rapportera in resultat från sina försök på tre olika områden relaterade till 3R: Report, Refine och Rescore. Inom området "report" ska forskare anonymt kunna rapportera negativa effekter eller motsägelsefulla resultat som sedan ska analyseras av en interdisciplinär vetenskaplig panel. Detta för att förhindra att misstag upprepas eller mindre bra metoder används i framtiden. Forskare ska också uppmanas till att berätta om förfining av sina försök ("refine") så att positiva exempel sprids och kan få ett bredare genomslag. "Rescore" syftar till att samla in använda blanketter för dokumentation av påverkan på djuren (score sheets) så att i praktiken fungerande blanketter som är väl anpassade till olika försök och ingrepp kan få en bredare användning. Tanken är att det ska leda till spridning av ett bra arbetssätt och bra metoder genom att mindre bra metoder och misstag minskar samt att positiva exempel får en bredare spridning. Resultaten ska kunna användas av föreståndaren för djurens välbefinnande, djurskyddsorganen, personal som sköter djur, djurtekniker, myndigheter, forskare och veterinärer. Eftersom det under uppstarten är oklart hur det kommer fungera och användas är plattformen än så länge tänkt att bara vara tillgänglig för forskare i Tyskland.

Elliot Lilley pratade om hur RSPCA (Royal Society for the Prevention of Cruelty against Animals) som djurvälståndsanslag jobbar, både i Storbritannien och internationellt, för att undvika försök som innebär avsevärd svårhetsgrad för djuren. RSPCA har utvecklat en färdplan hur försök med avsevärd belastning kan avvecklas eller förfinas samt tagit fram rekommendationer för olika svåra sjukdomsmodeller, t.ex. artrit-modeller, försök med sepsis och septisk chock samt modeller för multipel skleros (experimentell autoimmun encefalomyelit - EAE).

Thorsten Stiewe från Philips University Marburg berättade om hur luciferaser (bioluminescerande proteiner) kan användas för att övervaka tumörer genom ett litet blodprov. I mer traditionella cancermodeller används bioluminiscens för att göra cancertumörer synliga, kvantifiera antalet tumörceller och lokalisera tumörer i kroppen genom användning av olika bildgivande tekniker såsom magnetröntgen. Detta kräver ofta att djuren injiceras med markören och sövs flera gånger vilket

belastar djuren och kan påverka resultaten i sig. Tekniken är dessutom dyr och därutöver ger bilderna bara en begränsad kvantifiering eftersom mätning av ljusintensiteten vid användning av bildteknik störs beroende på var tumören är lokaliserad och hur mycket omgivande vävnader avskärmar. Den presenterade metoden är däremot billig och efterliknar mätning av tumörmarkörer i människan. Genom användning av denna teknik kunde antalet använda djur reduceras till hälften och belastningen minskar betydligt genom att djuren inte behöver sövas vilket ger ökad tillförlitlighet och bättre djurvälstånd.

Jan Philipp Junker från Max Delbrück Center för Molekylärmedicin presenterade en metod för att följa genuttrycket i olika celler under utveckling i zebrafisk embryon. Metoden går ut på att färgmarkera celler och följer deras vidareutveckling i tid och rum. Alla celler som härstammar från den markerade cellen visar samma färg. Detta kan användas till exempel för att upptäcka vilka celler som påverkas av en viss behandling. Genom markering av flera celler med olika färger i samma djur kan mycket information samlas med ett fåtal djur. En annan metod är att markera cellerna med hjälp av CRISPR/Cas9 så att ”genetiska ärr” uppstår som kan följas som en streckkod under den fortsatta utvecklingen. Tekniken möjliggör en systematisk upptäckt av relationer mellan olika celltyper.

Frederik A Verburg från Philips University Marburg hade undersökt produktion av sköldkörtelhormoner hos afrikansk jättesnäcka (*Achatina fulica*) och panthersnigel (*Limax maximus*) och föreslog att dessa djur potentiellt kan ersätta exempelvis möss, kaniner och råttor i vissa försök. Fördelen med att använda dessa djur istället för ryggradsdjur, förutom att de är mindre fysiologiskt utvecklade och inte kräver projektgodkännande, är att de är enkla att hålla och hantera. Samtidigt visar de trots allt en hel del likheter med människans fysiologi och tillåter att relativt stora prov (upp till 2ml) kan tas från deras hemolymf vid samma tillfälle.

Charlotte Sophie Leidinger från Johannes Gutenberg University Mainz berättade om hur hon tränat möss genom positiv förstärkning (klickerträning) för att underlätta hantering av dem och förbättra deras välfärd. Varje mus hade tränats 4 minuter per dag under 15 dagar (under 3 veckor) och det resulterade i mindre rädslo-relaterade och depressions-relaterade beteenden. Hon påpekade dock att det finns skillnader mellan olika stammar i hur mottaglig djuren är för träningen. Hennes arbetsgrupp har tagit fram träningsprogram för både möss och råttor och vill fortsätta utveckla träningsmetoder för andra däggdjur men även amfibier och fisk.

Blanca Rodriguez från Oxfords universitet visade hur datormodellering kan användas för hjärtfarmakologi. Datormodellerna hon presenterade är baserade på patientdata och kan inte bara simulera genomströmning av joner genom jonkanaler utan också förändringar i hela hjärtat. Modellen tar hänsyn till heterogenitet i hjärtat mellan olika individer genom jämförelse till kliniska fynd och bildteknik av människohjärtat. Modellen gav mer tillförlitliga svar angående effektivitet av en substans än motsvarande prekliniska djurförsök. Blanca betonade vikten av samarbete med andra forskningsgrupper, läkemedelsföretag, och myndigheter så att modellen i framtiden kan användas till exempel som ersättning för de första prekliniska försöken på människan.

Peter Jedlicka från ICAR3R och Goethe University Frankfurt visade en datormodell för nervceller i friska och sjuka hjärnor. Modellen kan användas för att förutse nervcellers elektrofysiologi. Han rekommenderade att kombinera datormodeller med in-vitro metoder och förklarade vikten av att utveckla sådana modeller även med hjälp av data från djurförsök för att erhålla realistiska förutsättningar. Förhoppningen är att dessa *in-silico* metoder i framtiden kan förutse kliniska händelser i djur och människan så att till exempel djurförsök med skador som hos Alzheimers sjukdom kan ersättas.

Hermann Cuntz från Goethe University Frankfurt pratade om en datormodell som visar hur nervceller (neuroner) förgrenar sig och ansluter till varandra. Han visade en databas som delar nervcellers simuleringar. Modellen är uppbyggd efter data på ideala förgreningar räknad bland annat på dendriternas längd, förgreningspunkter, antal synapser och spänningsvolym.

Thomas Dandekar från Würzburgs universitet presenterade datormodeller som ska visa på hur signalvägar i celler fungerar. För att anpassa dessa datormodeller användes data från in-vitro cellkulturer. Syftet är att en sådan tillförlitlig modell av mänskliga celler och deras signalvägar ska vara närmare den mänskliga patienten och på så sätt leverera mer pålitliga svar än någon djurmodell någonsin kan göra. Han visade även att data om interaktioner mellan proteiner som har hämtats från storskaliga försök och databank nu finns tillgängliga. Dessa data kopplade han till information om olika läkemedel som redan har godkänts av den amerikanska läkemedelsmyndigheten FDA (Food and Drug Administration) och sådana som inte är godkända än. Ut av denna information utvecklade han ett mjukvaruverktyg som kan förutsäga effektivitet av olika substanser.

Maike Windbergs från Goethe University Frankfurt berättade hur de testar olika in-vitro metoder för epitelvävnader i hud, lunga och inälvor. För att efterlikna epitelvävnaderna i kroppen så är 3D-modellerna uppbyggda av olika typer av mänskliga celler. Dessa in-vitro-modeller kan infekteras eller inflammeras och på så sätt användas för studier av inflammatoriska eller infektiösa sjukdomar såsom Crohns sjukdom (inflammatorisk tarmsjukdom) eller sårinfektioner.

Krishnendu Mukherjee från Justus-Liebig-universitetet i Gießen pratade om fördelar och begränsningar med att använda insekter och inte minst fjärilen större vaxmott (*Galleria melonella*) som försöksdjur. Den stora fördelen med denna mott, förutom att den är en etiskt mer accepterad modell än däggdjur, är att den kan hållas i samma temperatur som många däggdjurs kroppstemperatur (37 °C). Det är en temperatur som många humanpatogena bakterier är adapterade till. Dessutom är motten enkel att hålla och föda upp, och mottens genom är sekvenserad. Vaxmotten fungerar därför som bra modell för undersökningar av resistenta bakterier och screening av möjliga effektiva antimikrobiella substanser. Krishnendu visade hur vaxmotten har framgångsrikt används som modell för olika patogener till exempel listeria där han visade att samma mekanism som ligger bakom virulens hos människan även orsakar dödlighet i motten.

Jan-Bas Prins från universitetet i Leiden berättade om att Nederländerna har reviderat sin ambition om avveckling av alla djurförsök fram till 2025 och har numera syftet att bli ledande inom djurfri innovation. Eftersom försöksdjursanvändningen är så varierad har de delat upp användningen i fyra grupper: testning på grund av lagstiftning, utbildning och träning, grundforskning, samt translationell (tillämpad) forskning. Inom respektive grupp möts intressenter för att diskutera vägen framåt vilken delvis består av handlingsplaner och delvis identifiering av målområden. Jan-Bas pratade också generellt om fokus på minskning av djurens lidande samt förbättring av forskningskvalitén genom val av rätt modell, en bra försöksdesign och vikten av att alltid ifrågasätter sina metoder och syften.

## Muntliga presentationer

Det hölls 14 muntliga presentationer kring bland annat följande områden:

- Strategier för att undvika avsevärd svårhetsgrad
- Kognitiv berikning av gnagare genom träning
- Snäckor och fjärilar som alternativa försöksdjur
- Morfologisk modellering av neurala kretsar
- Datormodeller för hjärt-farmakologi
- In vitro modeller
- Kommunikation av 3R-relaterade resultat

## Postrar

28 stycken postrar presenterades kring bland annat följande områden:

- Förfinad smärtlindring för möss
- Träning av försöksdjur
- Användning av levande hjortars horn för att testa tandimplantat
- Stamceller i veterinärmedicin
- Ersättning av rabbit blood assay (vid insulinkontroll) med ett in vitro test
- Hur statistik kan minska djuranvändning
- En webbaserad plattform för att dela organ och vävnader
- Dator-modellering av dendriter (en del av nervceller) vid sårskador



[Länk till konferensen](#)

Karen Erlbacher och Per E Ljung  
Sveriges 3R-center



Bilaga: Programmet