

Inventaris Wob-verzoek W17-09									
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	NTS20171245								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel oud				x		x	x	
3	Niet-technische samenvatting oud			x					
4	Bijlage beschrijving dierproeven 1 oud				x		x	x	
5	Bijlage beschrijving dierproeven 2 oud				x			x	
6	Bijlage beschrijving dierproeven 3 oud			x					
7	Bijlage beschrijving dierproeven 4 oud			x					
8	DEC-advies				x		x	x	
9	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
10	Verzoek aanvulling aanvraag				x		x	x	
11	Projectvoorstel nieuw				x		x	x	
12	Bijlage beschrijving dierproeven 1 nieuw				x		x	x	
13	Bijlage beschrijving dierproeven 2 nieuw				x			x	
14	Bijlage beschrijving dierproeven 3 nieuw				x			x	
15	Bijlage beschrijving dierproeven 4 nieuw				x			x	
16	Niet-technische samenvatting nieuw	x							
17	Advies CCD		x						x
18	Beschikking en vergunning				x		x	x	



Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in	10500
		<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Rijksuniversiteit Groningen
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	1179037
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	A. Deusinglaan 1 [REDACTED]
		Postbus	
		Postcode en plaats	9713AV Groningen
		IBAN	NL45ABNA0474567206
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Rijksuniversiteit Groningen
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	[REDACTED]
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	<input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	
		Afdeling	
		Telefoonnummer	
		E-mailadres	

- 1.6 *(Optioneel)* Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- | | |
|-----------------------------|--|
| (Titel) Naam en voorletters | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie | |
| Afdeling | |
| Telefoonnummer | |
| E-mailadres | |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- Ja > Stuur dan het ingevulde formulier *Melding Machtiging* mee met deze aanvraag
- Nee

2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3
- Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2
- Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3
- 2.2 Is dit een *wijziging* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?
- Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier
- Nee > Ga verder met vraag 3
- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- Nee > Ga verder met vraag 3
- Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- | | |
|------------|--------------|
| Startdatum | 1 - 4 - 2017 |
| Einddatum | 1 - 4 - 2022 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Het verbeteren van uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem.
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Het verbeteren van uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem.
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|------------------------------|
| Naam DEC | DEC-RUG |
| Postadres | A. Deusinglaan 1, [REDACTED] |
| E-mailadres | secrdec.umcg@umcg.nl |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?
- Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1684 Lege
- Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
- Via een eenmalige incasso
- Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging
-

6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:

Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende verklaart:

- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
- dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
- dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
- dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam	[REDACTED]
Functie	[REDACTED]
Plaats	Groningen
Datum	30-03-2017
Handtekening	[REDACTED]



Format

Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

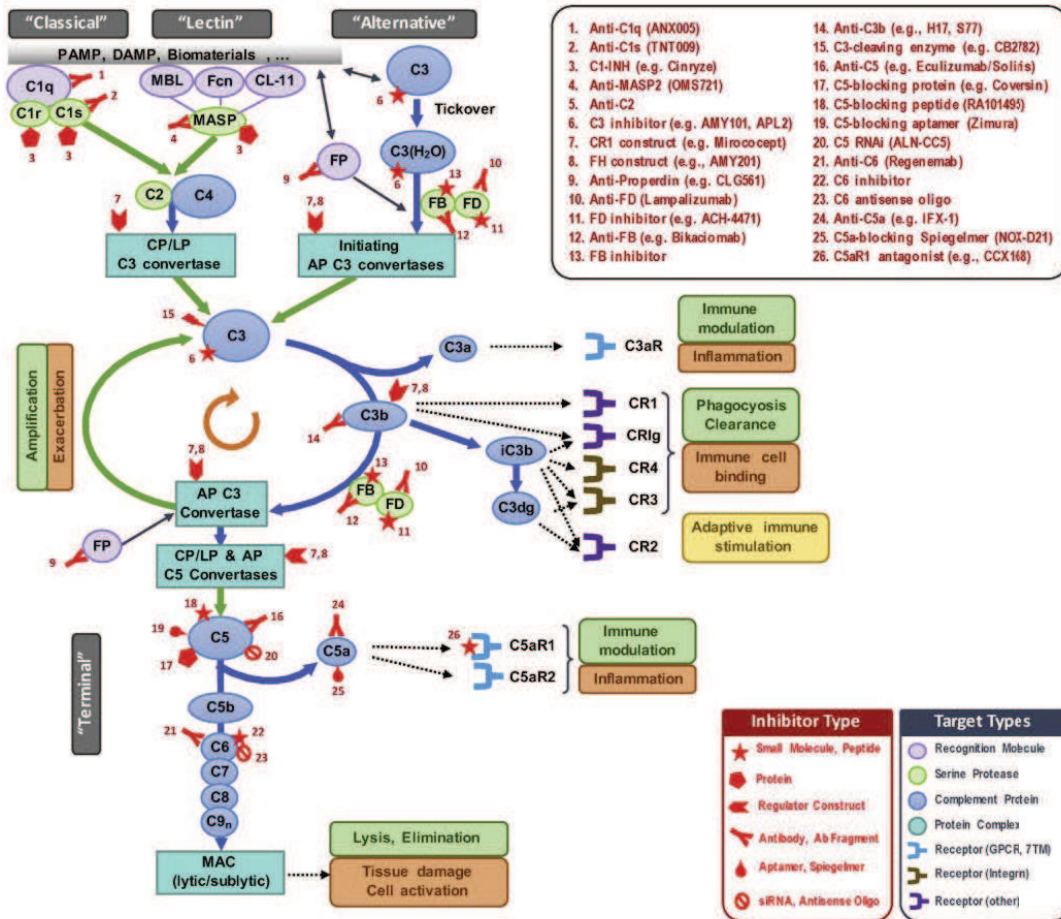
Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Het succes van niertransplantatie op korte termijn is groot, maar veel donornieren gaan op lange termijn verloren. De kwaliteit van de nier vóór transplantatie speelt hierbij een grote rol. Vooral bij transplantatie met postmortale nieren is de kwaliteit verlaagd. Een mindere kwaliteit van de nier versterkt de schade die ontstaat tijdens de periode dat de nier niet doorbloed is en als de bloedtoevoer weer hersteld wordt tijdens de transplantatie (ischemie/reperfusie schade). Deze schade leidt tot een groter risico op het langzaam op gang komen van de nier (delayed graft function), op acute en chronische afstoting [Walport MJ. N Engl J Med 2001;344(14):1058-66]. Ontregeling van het complement systeem speelt een centrale rol in het ontstaan van deze schade in de [REDACTED]

[REDACTED] De resultaten laten zien dat de functie en overleving van nier transplantaten verslechterd als gevolg van complement activatie. Deze bevindingen plaatsen de rol van remming van het complement systeem in een nieuw perspectief. Om de functie en overleving van nier transplantaten te verbeteren is het nodig om nieuwe aangrijpingspunten te identificeren voor interventie; tijdens en voor de transplantatie en in de donor, en/of de ontvanger. De behandeling van complement gerelateerde nierziekten berustte tot voor kort op zware afweer onderdrukkende medicatie, welke veel bijwerkingen gaven, waaronder systemische infecties. Proefdierstudies laten echter zien dat door gerichte interventie in het complement systeem deze bijwerkingen worden voorkomen. Daarnaast zijn deze gerichte interventies therapeutisch actief bij lage doseringen, wat ervoor zorgt dat een nieuwe groep aan geneesmiddelen in opkomst is. Dat deze proefdierstudies ook bruikbaar zijn in de kliniek blijkt uit het feit dat de eerste specifieke complement remmer inmiddels is geregistreerd onder de naam Eculizimab [Rother et al. Nature Biotechnology 2007;25:1256-64].

Het complement systeem is onderdeel van het aangeboren immuunsysteem, maar is ook betrokken bij de activatie van het verworven immuunsysteem. In totaal maken meer dan 30 eiwitten deel uit van het complement systeem. Activering van het complement systeem kan via drie routes: de klassieke route (door antistof complexen), de lectine route (door suikergroepen op ziekteverwekkers en beschadigde cellen van het eigen lichaam) en de alternatieve route (o.a. door oppervlaktemoleculen van bacteriën en apoptotische cellen). Alle drie de routes leiden tot de activatie van complement component 3 (C3). Na C3-activering kan de terminale route worden geactiveerd door de sequentiële activering van de componenten C5 tot C9. Samen vormen deze componenten een complex, het 'membrane attack complex', dat een porie vormt in de celwand, zodat deze lyseert [Ricklin et al. Nat Immunol 2010;11(9):785-797, Walport MJ. N Engl J Med 2001;344(14):1058-66]. Gezien de efficiëntie van het complement systeem is een strikte controle nodig om schade aan eigen weefsel en de eigen cellen te voorkomen. Op verschillende niveaus van het activatieproces vindt daarom regulatie plaats. Er zijn twee type regulatoren te onderscheiden: eiwitten in het plasma en eiwitten op het membraan van gastheercellen [Carroll et al. Adv Drug Del Rev 2011;63:965-75]. Samen zorgen deze complement regulerende eiwitten ervoor dat het complement systeem in evenwicht blijft. Dit evenwicht zorgt er enerzijds voor dat er (a) continu mogelijkheid is tot complement activatie en (b) anderzijds dat de complement activering een gecontroleerde reactie blijft [Zhang et al. J Clin Invest 1999;103(1):55-61]. Een ongecontroleerde activatie van het complement systeem, zowel up- als downregulatie, kan leiden tot destructie van circulerende bloedcellen of parenchymcellen en daarmee zorgen tot schade.



Figuur: Complement systeem – overzicht van alle complement componenten in zowel de drie activatieroutes van het complement systeem, als in de terminale pathway.

Deze recente bevindingen ondersteunen het idee dat met het gebruik van nieuwe interventiemethoden de bij niertransplantatie ontstane schade aan het transplantaat kan worden verminderd. Voor optimale toepassing van deze methoden is echter een beter begrip van de onderliggende mechanismen nodig en een volledige set van experimenten die de betrokken complement factoren en effecten van de middelen bepalen. Op deze manier kan de het succes van niertransplantatie de komende jaren sterk verbeteren.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

De hypothese luidt dat de activering van het complement systeem in de verschillende fasen van niertransplantatie: (1) in de donor, (2) tijdens preservatie, (3) tijdens transplantatie en (4) in de ontvanger resulteert in een verminderde transplantaatfunctie. Kortom: complement activatie vindt plaats van donor naar ontvanger. Hoewel onderzoek heeft aangetoond dat het complement systeem wordt op gereguleerd in al deze fasen, is het niet volledig opgehelderd wat het pathofysiologisch mechanisme hiervan is. Dit maakt het doel van onze studies tweeledig: (1) het onderzoeken van de pathofysiologische processen die ervoor zorgen dat het complement systeem tijdens al deze fasen van transplantatie wordt geactiveerd. (2) Het onderzoeken van verschillende interventiemethoden in het complement systeem om ervoor te zorgen dat nierschade tijdens niertransplantatie verminderd.

Hierdoor hebben wij de volgende onderzoeksvragen:

Hoofdvraag: Welke rol speelt het complement systeem bij de nierschade die ontstaat rondom niertransplantatie?

Deelvragen:

- Welk pathofysiologisch mechanisme speelt het complement systeem in niertransplantatie?
- Welke interventies in het complement systeem leiden tot een vermindering van nierschade tijdens niertransplantatie?

Haalbaarheid:

Om onze onderzoeksvragen te kunnen beantwoorden maken we gebruik van verschillende (dier)modellen, die elk een stap tussen de donor naar ontvanger vormen, namelijk:

1. Hersendoodinductie: We hebben uitgebreide expertise in het induceren van hersendood. Dit is geoptimaliseerd op ons eigen lab (de biotechnici) in samenwerking met het microchirurgisch team van de CDP.

2. Preservatie: Op het gebied van preservatie heeft onze onderzoeksgroep uitgebreide expertise. Verschillende organen uit verschillende species kunnen op ons lab worden geperfundeed. Hierbij zullen we ons vooral richten op het perfusiemodel en minder op de cold storage van nieren.

3. Ischemie/Reperfusieschade: Met het ischemie/reperfusie model hebben onze biotechnici uitgebreide ervaring in samenwerking met het microchirurgisch team van de CDP.

4. Transplantatie: Op het gebied van niertransplantatie werken we samen met het microchirurgisch team van de CDP. Het microchirurgisch team kan ons bijstaan in het uitvoeren van dit model.

Al het benodigde apparaatuur is aanwezig op al dan niet ons lab of de CDP. Daarnaast hebben we een breed scala aan immunohistochemische en moleculaire technieken tot onze beschikking om complement componenten tot in detail te kunnen onderzoeken.

3.3 Belang

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

Niertransplantatie is de eerste keus behandeling voor patiënten met eindstadium nierfalen. Echter sterven er nog steeds patiënten die op de wachtlijst staan door het tekort aan orgaandonoren. De lange termijn overleving van donornieren is afhankelijk van verschillende factoren zoals:

- 1. De donor: levende versus postmortale donatie
- 2. Preservatie: cold storage versus perfusie
- 3. Transplantatie: warme en koude ischemietijden
- 4. De ontvanger: wel of geen rejectie

} Kortom: van donor naar ontvanger.

Remming van het complement systeem zal dan ook leiden tot een verbeterde transplantaatfunctie en overleving. Een groot probleem in het interveniëren in het complement systeem door middel van de 'oude' geneesmiddelen ten opzichte van onze huidige ideeën is significante remming van het systemisch circulerende complement. Omdat het complement systeem een onderdeel is van het aangeboren immuunsysteem speelt het complement systeem een belangrijke rol bij het voorkomen van infecties en ontstekingen in het lichaam. Het systemische remmen van het complement systeem, zoals de 'oude' geneesmiddelen doen, heeft dan ook als gevaar het risico op het ontstaan van infecties.

Een intact complement systeem is een voorwaarde voor een immuun competente toestand. Toename van kennis over complementeiwitten en over de regulatie van complement activering maken specifieke

interventie in het complement systeem mogelijk, zoals specifieke en selectieve remming van het complement systeem. Recente ontwikkelde medicijnen interveniëren dan ook op een specifieke plek in het complement systeem en op een selectieve manier. Kortom niet alle complement eiwitten, maar een paar specifieke complement eiwitten. Plus niet in het hele lichaam, maar specifiek in een bepaald orgaan of op de plaats van ontsteking. Doordat deze middelen specifiek en selectief aangrijpen heeft dit als bijkomend voordeel dat deze middelen werkzaam zijn bij een therapeutisch lage dosering. Hierdoor zal het systemisch circulerende complement niet geheel worden geremd, waardoor het risico op het ontstaan van infecties niet wordt verhoogd. Ook onze onderzoeksgroep heeft laten zien dat gerichte interventie (gebruik van nieuwe methoden) in het complement systeem effectief is in het verbeteren van de nierfunctie zonder het uitlokken van systemische infecties of het verhogen van de infectiegevoeligheid [unpublished data].

3.4 Onderzoeksstrategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

Het doel van ons onderzoek is tweeledig: (1) het onderzoeken van de pathofysiologische processen die ervoor zorgen dat het complement systeem tijdens al deze fasen van transplantatie wordt geactiveerd (=mechanistisch). (2) Het onderzoeken van verschillende interventiemethoden in het complement systeem om ervoor te zorgen dat nierschade tijdens niertransplantatie verminderd (=functioneel).

Mechanistisch

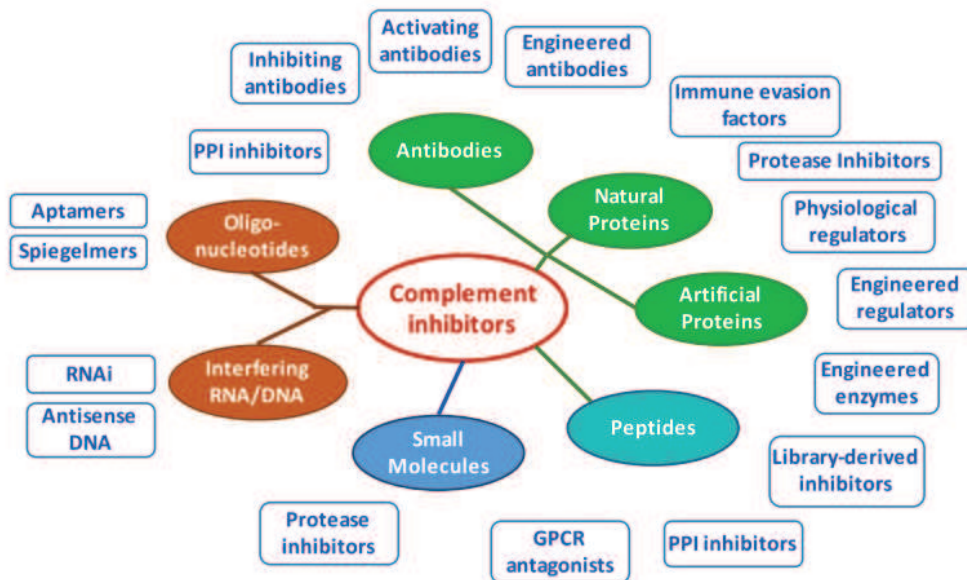
Om deelvraag (1) te kunnen beantwoorden zullen we kijken naar mechanismen van complement activatie. Om de mechanismen van complement activatie te onderzoeken maken we gebruik van KO-lijnen. Deze KO-lijnen worden gebruikt om te onderzoeken of het eiwit dat zij missen een rol speelt bij de activatie van het complement systeem. Secundair hieraan weten we aan de hand van dit onderzoek direct of deze eiwitten wel of niet een potentiële target bij interventie zijn. Momenteel heeft onze onderzoeksgroep 5 KO-lijnen beschikbaar in de CDP. Deze KO-lijnen representeren allen een ander onderdeel van het complement systeem.



Mochten een van de bovenstaande KO-lijnen niet worden gebruikt, dan zullen deze dieren ook niet worden gebruikt. Voor het gebruik van de KO-lijnen moet in vitro /in vivo data beschikbaar zijn over de potentie van deze lijnen.

Functioneel

Om deelvraag (2) te kunnen beantwoorden gaan we functioneel kijken naar de rol van het complement systeem. Hierbij zullen we op verschillende manieren in het complement systeem interveniëren. Onderstaand figuur geeft de mogelijke manieren van interventie in het complement systeem weer.



Figuur: overzicht van alle mogelijke middelen die specifiek in het complement systeem aangrijpen

De middelen die zullen worden gebruikt voor het interveniëren in het complement systeem moeten aan een aantal criteria voldoen:

- a. De middelen moeten specifiek aangrijpen op het complement systeem;
- b. De middelen moeten deels in vitro/in vivo zijn getest. Hieruit moet zijn gebleken dat deze middelen potentie hebben om het complement specifiek en effectief te kunnen remmen.

Bovenstaand zijn de mogelijke interventies, wanneer een van deze interventies niet wordt toegepast, zullen de hiervoor aangevraagde dieren niet worden gebruikt.

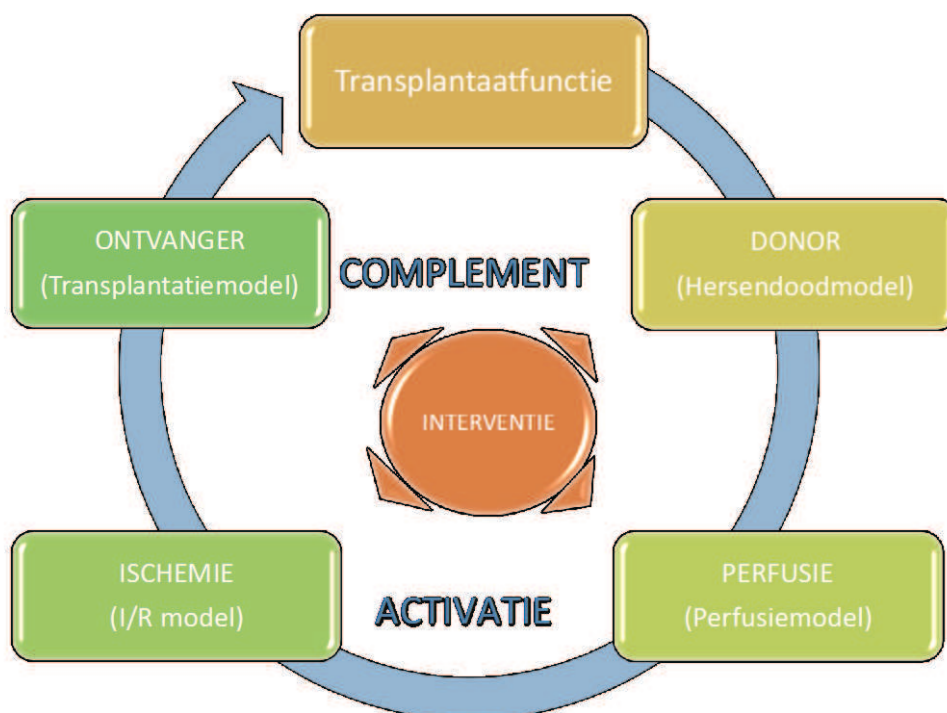
Zowel mechanistisch als functioneel willen we onderzoek doen in verschillende modellen. Elk van deze modellen simuleren een onderdeel van het transplantatieproces waarin het complement systeem wordt geactiveerd.

De modellen waarin mechanistisch en functioneel wordt gekeken zijn:

- Hersendoodinductie model – Bijlage 1
- Perfusiemodel – Bijlage 2
- Ischemie/Reperfusie model – Bijlage 3
- Transplantatiemodel – Bijlage 4

3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

De modellen die worden gebruikt in ons project zullen niet altijd in onderstaande volgorde worden uitgevoerd. De reden hiervoor is dat in sommige modellen al een aantal mechanische en functionele onderzoeken zijn gedaan. Zo is er anno 2017 veel meer bekend over de rol van het complement systeem in ischemie/reperfusie dan in bijvoorbeeld hersendood. Met beide argumenten houden we rekening in de uitvoering van onze experimenten. De belangrijkste uitkomstparameter voor alle modellen is nierschade, gemeten aan de hand van inflammatiemarkers en nierfunctie.



Figuur: Van donor naar ontvanger vinden er tijdens transplantatie een aantal processen plaats die ieder op zichzelf staand (maar ook cumulatief) van invloed zijn op de transplantaatfunctie. Onze onderzoeksgroep heeft aangetoond dat het complement systeem tijdens al deze bovengenoemde stappen wordt geactiveerd. Zo zien we in de donor dat een hersendode donor significant meer complement depositie in de nier heeft vergeleken met een levende of hartdode donor. Daarnaast zijn er verschillende perfusiemodellen welke allen in andere mate het complement systeem activeren. Zoals eerder onderzoek heeft laten zien wordt er tijdens ischemie/reperfusie ook complement geactiveerd doordat de epitheelcellen in de nier als gevolg van ischemie/reperfusie meer gevoelig worden voor complement activatie. Daarnaast zorgt complement activatie in de donor na transplantatie voor het aantrekken van afweercellen in de ontvanger. Kortom van donor tot ontvanger, in elke stap wordt het complement systeem geactiveerd met als gevolg een verminderde transplantaatfunctie. Onze diermodellen representeren en modelleren de stappen van donor en ontvanger en zijn daarom geschikte modellen om de mechanistische en functionele rol van het complement systeem te onderzoeken.

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

Fasering:

❖ **Alle modellen**

Voor nieuwe middelen zal, voor zover noodzakelijk, eerst bekend moeten zijn wat het te verwachten effect is en de daarmee gepaard gaande bijwerkingen. Eventueel zal dit met in vitro werk worden gedaan of worden gebaseerd op eerdere literatuur. In de volgende fase zullen de nieuwe middelen worden toegepast in de eerder genoemde in vivo modellen.

❖ **Transplantatiemodel**

Voor het transplantatie model (bijlage 4) geldt dat het mechanistische/functionele experiment eerst moet zijn uitgevoerd in een ander model (beschreven in bijlage 1, 2 en 3) eventueel op basis van valide literatuurreferenties. Het tweede keuze moment (NO GO) zal zijn dat de methoden niet worden toegepast op het transplantatiemodel als uit een eerder model negatieve resultaten zijn verkregen.

Mijlpalen - Algemene GO/NO GO momenten:

GO/NO GO 1 - werkzaamheid middel: Door middel van pilot experimenten zal zo nodig worden onderzocht wat de juiste dosering van de nieuwe middelen moet zijn en/of de interventie strategie werkzaam is. Dit kan betekenen dat een middel ook eerst getest kan worden zonder de toepassing van een model. Dit om te kijken of het middel in vivo dezelfde uitkomsten geeft dan in vitro. Als zonder het toepasbare model blijkt dat het middel al niet werkzaam is, zal dit middel niet worden gebruikt in een model.

GO/NO GO 2 – ongerief dieren: Daarnaast zal in het pilot experiment worden gekeken hoe het ongerief van de dieren kan worden gereduceerd. Het keuze moment bij elk experiment is de uitkomst van het al dan niet uitgevoerde pilot experiment. Als uit het pilot experiment blijkt dat het ongerief van de dieren proportioneel hoog is of de dosis van de nieuwe middelen onverantwoord zijn, zal dit middel niet worden gebruikt. Dit zelfde geldt voor de KO-lijnen.

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

Volgnummer	Type dierproef
1	Hersendoodinductiemodel
2	Preservatietechnieken
3	Ischemie/Reperfusiemodel
4	Transplantatiemodel
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Format

Niet-technische samenvatting

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Het verbeteren van uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem.
1.2 Looptijd van het project	5 jaar
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	Niertransplantatie, complement systeem, interventie

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project. <i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Fundamenteel onderzoek
	<input checked="" type="checkbox"/> Translationeel of toegepast onderzoek
	<input type="checkbox"/> Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
	<input type="checkbox"/> Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid
	<input type="checkbox"/> Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
	<input type="checkbox"/> Hoger onderwijs of opleiding
	<input type="checkbox"/> Forensisch onderzoek
	<input type="checkbox"/> Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Projectbeschrijving

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	Het succes van niertransplantatie op korte termijn is groot, maar veel donornieren gaan op lange termijn verloren. De kwaliteit van de nier voor transplantatie speelt hierbij een grote rol. Vooral bij transplantatie met postmortale nieren is de kwaliteit verlaagd. Een mindere kwaliteit van de nier versterkt de schade die ontstaat door de periode dat de nier niet doorbloed is en weer doorbloed raakt tijdens de transplantatie (ischemie/reperfusie schade). Deze schade leidt tot groter risico op het langzaam op gang komen van de nier (delayed graft function), op acute afstoting en op chronische afstoting. Ontregeling van het complementsysteem speelt een centrale rol in
---	---

het ontstaan van deze schade in de nier. Dierexperimenteel onderzoek heeft laten zien dat het complementsysteem geactiveerd wordt in alle fasen rondom niertransplantatie: de donor, tijdens preservatie, tijdens transplantatie en in de ontvanger. Deze complementactivatie verslechtert de functie en overleving van de nieren. Het is daarom belangrijk om nieuwe interventie mogelijkheden, welke aansturen op het complementsysteem, te onderzoeken. Dit draagt bij aan het verbeteren van niertransplantaatfunctie op lange termijn.

3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?

Het doel van onze studie is om de functie van het niertransplantaat te verbeteren door gericht en effectief te targeten in het complementsysteem. Hierdoor zullen we uiteindelijk een bijdrage kunnen leveren in het verbeteren van de nierfunctie na transplantatie op lange termijn.

Daarnaast zullen we door het onderzoeken van de interventiemogelijkheden ook meer kennis vergaren over de exacte rol van het complementsysteem in niertransplantatie.

3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?

De experimenten worden uitgevoerd in muizen en ratten. Het project bestaat uit vier delen, welke elk een deel van het transplantatieproces vertegenwoordigen. Het totale aantal dieren is 2740 voor dit hele project.

3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?

De verwachte negatieve gevolgen zijn afhankelijk van het gebruikte model. In twee van onze modellen kan het welzijn van de dieren worden aangetast. Door middel van standaardisatie van de procedures en het gebruiken van ervaren biotechnici wordt het ongerief zo laag mogelijk gehouden. Bij overschrijding van het vooraf ingeschatte ongerief zullen passende maatregelen worden genomen.

3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?

Het zwaarste ongerief is 'ernstig'. Het zwaarste ongerief zal bij ongeveer 19% van de dieren plaatsvinden. Overige dieren ondervinden matig (=19%), licht (41%) of geen (=terminaal) (21%) ongerief.

3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop?

Om de nieren te kunnen analyseren zullen organen, bloed en urine worden verzameld. De dieren zullen daarom als onderdeel van het experiment worden gedood.

4 Drie V's

4.1 **Vervanging**
Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije

Het onderzoeken van het effect van gerichte interventie in het complementsysteem op nier transplantaatfunctie kan tot op heden alleen worden bestudeerd door middel van dierexperimenteel onderzoek. Tot nu toe zijn er geen modellen die ons in staat stellen de complexiteit van onze

alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

vraagstelling in vitro goed te bestuderen.

4.2 **Vermindering**

Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.

Door middel van statistische testen zal vooraf worden bepaald hoeveel dieren nodig zijn om toeval van de resultaten uit te sluiten. Om het aantal dieren te verminderen zullen we alleen diermodellen gebruiken waar onze biotechnici voldoende ervaring mee hebben opgedaan. Hierdoor wordt de kans op spreiding van de resultaten verminderd. Daarnaast zullen we factoren die van invloed zijn op de uitkomst zoveel mogelijk standaardiseren, zodat het benodigde aantal dieren wordt beperkt.

4.3 **Verfijning**

Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

De experimenten worden uitgevoerd in muizen en ratten. Voor allebei de diersoorten hebben we goede diermodellen die de humane situatie goed nabootsen. We gebruiken muizen, omdat in muizen transgenese kan worden toegepast. Wat ons in staat stelt de rol van een specifiek gen op de nier transplantaatfunctie te onderzoeken. Daarnaast gebruiken we ratten, omdat het in ratten mogelijk is niertransplantaties uit te voeren, waardoor we de humane situatie exact nabootsen. Hierdoor zijn we in staat onze resultaten goed te kunnen transleren naar de humane situatie.

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

In alle diermodellen is er sprake van adequate verdoving en pijnbestrijding. Hierdoor zullen de dieren geen pijn of angst ervaren tijdens de experimenten of tijdens het termineren.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	10500	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Rijksuniversiteit Groningen	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		3.4.4.1.	Hersendoodinductiemodel

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Hoewel het aantal donornieren gedoneerd door levende en harddode donoren toeneemt, wordt echter nog een substantieel deel van de donornieren verkregen via hersendode donoren. Donornieren van hersendode donoren geven inferieure resultaten in vergelijking met donatie bij leven of na hartdood [Terasaki et al. N Engl J Med 1995;10;333(6):333-336]. Een van de factoren die hiervoor predisponeert is de activatie van het complement systeem in hersendood. Geactiveerde complement componenten zorgen voor het ontstaan van een ontstekingsreactie in de nier. Deze hersendood geïnduceerde renale inflammatie zorgt voor schade van het transplantaat, met verslechtering van de nierfunctie als gevolg

Keuze hersendoodinductiemodel:

Het hersendoodinductie model maakt het mogelijk zowel de mechanistische als functionele rol van het complement systeem te bestuderen. Het Ons model simuleert de humane hersendood situatie in die zin dat er een vergelijkbare mate van schade en daarmee inflammatie wordt veroorzaakt na hersendoodinductie als humaan gezien. Dit zorgt ervoor dat ons model een optimale face validity heeft.

Uitkomstparameters:

De uitkomstparameters in het hersendoodinductie model zijn de nierfunctie en mate van nierschade. Wij hebben voor deze uitkomstparameters gekozen omdat deze parameters in de humane situatie ook als maatstaf voor nierfunctie worden gebruikt. Daarnaast is in eerder onderzoek aangetoond dat de interleukine-6 expressie de meest uitgesproken inflammatoire marker in hersendood is, welke 60-100 maal is verhoogd in hersendode diermodellen. De nierfunctie zal worden gemeten aan de hand van de hoeveelheid creatinine en ureum in het plasma. De mate van nierschade wordt bepaald aan de hand van de mate van inflammatie, waarbij interleukine expressies worden bepaald.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Opzet:

Bij adequaat geanesthezeerde dieren zal hersendoodinductie plaatsvinden. Hersendood zal worden geïnduceerd door een ballonkatheter in de extradurale ruimte te plaatsen en op te blazen. De manier waarop hersendood wordt geïnduceerd zorgt ervoor dat dezelfde mate van inflammatie wordt bereikt als bij de humane hersendode donoren. Hersendood wordt vastgesteld middels de afwezigheid van een adem prikkel en het verloop van de bloeddruk. Na hersendood zal de anesthesie stoppen en zullen de dieren worden geventileerd. De dieren worden tot maximaal 4 uur na hersendoodinductie gemonitord om vitale functies te meten. Hierna zullen de dieren worden getermineerd. Bloed, urine en organen worden verzameld en opgeslagen.

Experiment (fases)	Hersendoodinductie	Monitoring	Terminatie + opslag
Tijdsbeloop (min)	T0-T30	T30-T270	T270

Niet aangegeven in tabel: Wanneer nieuwe middelen worden getest zal dit zowel voor als na de hersendoodinductie kunnen worden gedaan.

De reden dat nieuwe middelen voor hersendoodinductie worden toegediend is gebaseerd op het principe van 'proof of principle', zodat we er zeker van zijn dat het middel op de juiste plek komt, in de juiste tijdspanne. Dit omdat in de humane situatie de hersendode donor vaak 12-16 uur hersendood is voor donatie. Hierdoor is er genoeg tijd om in deze tijdspanne een medicijn toe te dienen welke op de juiste plaats komt. In ons model werken we echter met modellen waarin maximaal 4 uur hersendood plaatsvindt, waardoor het medicijn wellicht niet genoeg tijd heeft op de juiste plaats in het lichaam te komen. Hierdoor dienen we als 'proof of principle' het medicijn voor hersendood toe, gebaseerd op de halfwaardetijd van het middel. Tijdstip van toediening is daarom afhankelijk van de halfwaardetijd van het medicijn. Toedieningsweg wordt eveneens bepaald door type medicijn. Dit kan oraal, intraveneus, intramusculair, subcutaan of intra peritoneaal zijn.

Hersendood: rat versus muis

De hersendoodinductie in ratten en muizen is overeenkomstig. De manier waarop hersendood wordt geïnduceerd is hetzelfde in beide species. Het enige verschil is dat het hersendoodmodel in de rat 4 uur duurt en in de muis 3 uur. De reden voor dit verschil is dat muizen een sneller metabolisme hebben en het effect van 3 uur hersendood daarmee overeenkomstig is met het 4 uur durende hersendoodmodel in de muis

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Op basis van eerdere experimenten kunnen we voor de meeste primaire uitkomstmaten een te verwachten effectgrootte voorspellen. Door middel van powercalculaties wordt daarmee het aantal dieren beperkt. Daarnaast zal door middel van standaardisatie de variatie worden beperkt en daarmee het aantal benodigde dieren tot een minimum worden beperkt.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoorten: Muizen en ratten. Zowel wildtypes als genetisch gemodificeerde dieren. Muizen worden gebruikt omdat genetische modificatie veelgebruikt en makkelijker te bewerkstelligen is in muizen, zoals KO modellen. Beide, zowel muizen en ratten, worden gebruikt voor de overige medicatie types beschreven in de bijlage Projectvoorstel.

Herkomst: Aankoop van commerciële, erkende leveranciers of andere instellingen. Via samenwerkingsverbanden of eigen fok. Momenteel hebben we 5 genetisch gemodificeerde foklijnen in de CDP in Groningen, benoemd in het projectvoorstel. De herkomst van de dieren zal afhangen van de onderzoeksvraag.

Levensstadia: Volwassen dieren. (ook de grootste humane groep).

Geschatte aantallen: Het hersendoodmodel zal gebruikt worden voor zowel mechanistische als functionele vraagstellingen. Op basis van poweranalyse zullen per groep 10 dieren worden aangevraagd, waarbij er maximaal 4 groepen in een experiment zitten. De inclusie van 8 dieren per groep is met een power van 80% en een standaarddeviatie van 10% voldoende [α 0.05]. Echter houden wij rekening met een additionele

uitval van maximaal 20% per groep, wat neer komt op 2 extra dieren per groep en daarmee dus 10 dieren per groep.

Uitval:

De uitval van maximaal 20% is gebaseerd op onze eerdere ervaringen met het hersendoodinductie model, waarbij uitval werd veroorzaakt door bijvoorbeeld overbelasting van het hart. Overbelasting van het hart wordt veroorzaakt doordat de dieren tijdens de 3-4 uur hersendoodperiode hemodynamisch stabiel worden gehouden met volume expanders in combinatie met vasoconstrictoren. Hierbij zien we soms dat de dieren vroegtijdig overlijden. Onze gegevens laten zien dat dit niet het gevolg is van overvulling of dat er een samenhang is met de hoeveelheid plasma expander die wordt toegediend, dit is dus het gevolg van individuele gevoeligheid voor de verschillende pathofysiologische processen geïnduceerd door hersendood. De procedure kent een maximale hoeveelheid plasma expander en vasoconstrictoren welke mogen worden toegediend.

Daarnaast vragen wij nog pilotdieren aan. Met de pilot kan de toedieningsweg, tijd van toediening en dosering van de medicatie worden getest. Dit al dan niet in combinatie met de hersendoodinductie (afhankelijk van de vraagstelling). Per experimentele groep vragen wij n=4 aan). Wanneer een pilot niet nodig is, zullen de pilotdieren niet worden gebruikt.

Opzet experiment:

Diersoort	[A] pilotdieren	[B] max aantal groepen per pilot	[C] Aantal dieren per groep + uitval	[D] Max aantal groepen per experiment	[E] Aantal experimenten per jaar	[F] Totaal per jaar = [A]x[B]x[E] + [C]x[D]x[E]	Totaal 5 jaar = [F] x 5
Muizen	4	4	10	4	1	56 +	280 +
Ratten	4	4	10	4	2	96 +	480 +
Totaal						152 =	760 =

Per jaar worden gemiddeld 3 hersendoodexperimenten in ratten en muizen uitgevoerd. Dit brengt het totaal op **152** dieren per jaar. Voor 5 jaar zijn dit **760** dieren.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: Tot op heden is er geen goede vervanging van het hersendoodinductiemodel door middel van in vitro experimenten. Hedendaags is er wel een brain slice model, waarbij gekeken kan worden naar het effect op hersencellen zelf. Echter is onze primaire uitkomstmaat nierfunctie en nierschade. Om dit te onderzoeken is het noodzakelijk een proefdiermodel te gebruiken. Door middel van in vitro experimenten wordt voorwerk verricht over de te verwachten effecten van de nieuwe middelen/strategieën.

Vermindering: Wij reduceren het aantal dieren door vooraf uitgevoerde powercalculaties. Meer dieren zullen tijdens het experiment niet worden gebruikt. Daarnaast zullen onze biotechnici de omstandigheden tijdens de proef optimaal houden, waardoor variatie wordt gereduceerd en daarmee het aantal benodigde dieren. Hoewel het effect van complementinterventie na hersendood op nierfunctie onze primaire uitkomstmaat is in dit model, zullen ook andere organen worden uitgenomen. Hierdoor zullen in de toekomst secundaire uitkomstmaten kunnen worden geanalyseerd, zonder dat er nieuwe experimenten moeten worden uitgevoerd.

Verfijning: Tijdens het hersendoodinductiemodel wordt gezorgd voor adequate algehele anesthesie. Tijdens de anesthesie zal door middel van adequate controle en monitoring van de dieren worden getracht het vooraf vastgestelde ongerief niet te overschrijden.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

De hersendoodinductie zal plaatsvinden onder adequate algehele anesthesie. Tijdens het boren van een gat in de schedel zal lokaal lidocaïne worden gegeven. Door middel van adequate controle en monitoring van de dieren zal het vooraf vastgestelde ongerief niet worden overschreden.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Het hersendoodinductie model is een specifiek model ontwikkelt en operationeel gemaakt door onze eigen biotechnici. Over de wereld zijn maar een paar onderzoeksgroepen die dit hersendoodinductie model gebruiken. De toepassing van interventies specifiek gericht op het complement systeem op dit hersendoodinductie model is dan ook uniek in de wereld en wordt alleen toegepast door onze eigen onderzoeksgroep.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Hersendood wordt onder algehele anesthesie geïnduceerd. Daarnaast zal lokaal lidocaïne worden toegediend ter preventie van pijn tijdens het boren van een opening in de schedel.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Geen

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Niet van toepassing

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Niet van toepassing

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

- Overbelasting van het hart (kan complicatie van hersendood zijn, in dergelijke gevallen wordt de proef gestopt)
- Gewichtsverlies van meer dan 15%
- Inactiviteit van het dier
- Conditie van de vacht
- Ontstekingsverschijnselen
- Bijwerkingen injecties

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Dit hangt onder andere af van het gebruik van wildtype dieren of genetisch gemodificeerde dieren. Op basis van eerder uitgevoerde experimenten met dit hersendoodinductie model wordt het percentage geschat op 10-20% uitval. De verwachte ongerief op basis van de injecties is 'licht' en kwantitatief zeer laag (<2%). Dit is op basis van onze eerdere ervaringen met het geven van dergelijke injecties voor/na hersendood.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Injecties: Licht

Hersendoodinductie: Terminaal

Totaal: Licht

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Uitname van organen is noodzakelijk voor het bereiken van de primaire eindpunten.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	10500	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Rijksuniversiteit Groningen	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		3.4.4.2	Preservatietechnieken

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

De kwaliteit en levensduur van het transplantaat lijken voor een belangrijk deel bepaald te worden door de omstandigheden waarin de organen worden gepreserveerd. Tot voor kort werden donornieren gespoeld met een koude, zuurstofloze vloeistof. Vervolgens werden ze verpakt en op ijs gezet en zo snel mogelijk naar het ziekenhuis van de ontvanger gebracht. De koeling op ijs zorgt ervoor dat het metabolisme van het orgaan bijna volledig stil komt te liggen. Dat beperkt de schade aan het orgaan. Ondanks dat deze methode 30 jaar is gebruikt, is de methode zelf vrij grof. Goede organen die overleven dit proces, die kunnen tegen een stootje. Maar organen die enigszins beschadigd uit de donor komen, kunnen veel minder hebben, wat gevolgen kan hebben voor de transplantaatfunctie. Een nieuwe techniek is de machinale preservatie, ook wel perfusie genoemd. Hierbij worden de organen gespoeld met zuurstofrijke vloeistof en blijven die tijdens de bewaring continu rondpompen. Het orgaan wordt daarbij niet altijd meer gekoeld. Deze methode houdt de kwaliteit van organen als de nier beter in stand. Vandaar dat onderzoek naar het effect van perfusiemethoden en het ontwikkelen van nieuwe perfusiemethoden belangrijk is.

Keuze perfusiemodel:

We hebben gekozen voor het perfusiemodel omdat deze techniek relatief nieuw en veelbelovend is. Op ons lab zijn de perfusiemodellen geoptimaliseerd voor meerdere organen. Het model van deze pompen is gebaseerd op de humane situatie, waardoor de resultaten goed zijn te vergelijken met de humane perfusiemodellen. Momenteel hebben we voor meerdere organen een perfusiemodel: long, lever en nieren.

Primaire uitkomstparameters:

De uitkomstparameters zijn de nierfunctie en mate van nierschade. Wij hebben voor deze

uitkomstparameters gekozen omdat deze parameters in de humane situatie ook als maatstaf voor nierfunctie worden gebruikt. De nierfunctie zal worden gemeten aan de hand van de hoeveelheid creatinine en ureum in het urine. De mate van nierschade wordt bepaald aan de hand van de mate van inflammatie, waarbij interleukine expressies worden bepaald. Omdat onze primaire uitkomstparameters in urine worden bepaald zal urineproductie ten tijde van machineperfusie noodzakelijk zijn.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Opzet:

Onder algehele anesthesie vindt dubbelzijdige nefrectomie plaats. Hierbij wordt de ureter vrij geprepareerd en gecanuleerd. Vervolgens wordt de aorta caudaal van de arteria renalis vrij geprepareerd en gecanuleerd. De arteria renalis en de vena renalis worden vervolgens eveneens gecanuleerd. Hierna vindt de nefrectomie plaats en wordt het dier getermineerd. Bloed, urine en organen worden verzameld en opgeslagen.

Door middel van de canules wordt de nier aangesloten op de perfusiemachine. Hier wordt afhankelijk van de vraagstelling druk- of volume gereguleerd vloeistof door de nier gepompt. De vloeistofsamenstelling is afhankelijk van de vraagstelling en gestandaardiseerd in een vooraf uitgevoerd pilot experiment. Tijdens het gehele experiment, zowel pilot als interventie, wordt de geproduceerde urine opgevangen.

Afhankelijk van de vraagstelling zal al dan niet een medicijn worden toegevoegd aan de perfusievloeistof. Tijdstmoment is afhankelijk van de vraagstelling. Een pilotexperiment zal vooraf worden uitgevoerd om te bepalen wat de optimale dosering, toedieningstijd en werkzaamheid van het medicament in de perfusievloeistof is. Daarnaast is het wellicht nodig om de condities van de perfusiemachine te bepalen, hierbij moet worden gedacht aan het bepalen van de juist druk waarmee de vloeistof wordt rond gepompt of de hoeveelheid zuurstof in de perfusievloeistof. Dit zal niet voor elk experiment nodig zijn, maar afhankelijk zijn van de vraagstelling. In de pilot zullen dan minimaal 1 parameter en maximaal 3 parameters worden getest (zoals medicatieparameters, druk, zuurstofconcentratie, temperatuur, volume en priming (=additieven) van de vloeistof). In het daadwerkelijke interventie experiment zullen we vervolgens perfusie met interventie en perfusie zonder interventie (en eventueel cold storage) met elkaar vergelijken. Kortom, maximaal 3 preservatie condities.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Op basis van eerdere experimenten kunnen we voor de meeste primaire uitkomstmaten een te verwachten effectgrootte voorspellen. Door middel van powercalculaties wordt daarmee het aantal dieren beperkt. Daarnaast zullen interindividuele verschillen tussen de dieren zo klein mogelijk worden gehouden om variatie tussen de dieren te beperken en daarmee het benodigde aantal dieren zo klein mogelijk te houden.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoorten: Ratten. Zowel wildtypes als genetisch gemodificeerde dieren. De perfusiemodellen zijn alleen geoptimaliseerd en ontworpen voor ratten. De reden hiervoor is, is dat de nieren van muizen te klein zijn om te canuleren en aan te sluiten op de perfusiemachines.

Herkomst: Aankoop van commerciële, erkende leveranciers of andere instellingen. Via samenwerkingsverbanden of eigen fok. De herkomst van de dieren zal afhangen van de onderzoeksvraag.

Levensstadia: Volwassen dieren.

Geschatte aantallen: Het preservatiemodel zal worden gebruikt om zowel mechanistische als functionele vraagstellingen te beantwoorden. Op basis van poweranalyse zullen per groep 10 dieren worden aangevraagd. De inclusie van 8 dieren per groep is met een power van 80% en een standaarddeviatie van 10% voldoende [α 0.05]. Echter houden wij rekening met een additionele uitval van maximaal 20% per groep, wat neer komt op 2 extra dieren per groep en daarmee dus 10 dieren per groep. Deze uitval van maximaal 20% is gebaseerd op onze eerdere ervaringen met het perfusie model, waarbij uitval werd veroorzaakt door bijvoorbeeld een afwijkende anatomie of het niet produceren van urine door de nier tijdens perfusie (urine is een belangrijkste uitkomstparameter).

Opzet experiment:

PILOT EXPERIMENT:

Groep 1: Parameter 1 (n=3)

Groep 2: Parameter 2 (n=3)

Groep 3: Parameter 3 (n=3)

Totaal per pilot experiment: **9** dieren.

INTERVENTIE EXPERIMENT

Groep 1: Experimentele groep → Pomp met medicijn (n=10)

Groep 2: Experimentele groep → Pomp zonder medicijn (n=10)

Per experiment gemiddeld **20** dieren gebruikt.

Diersoort	[A] Dieren per groep in pilot	[B] Groepen in pilot	[C] Aantal dieren per exp groep + uitval	[D] Aantal groepen/ Exp	[E] Aantal Exp per jaar	[F] Totaal per jaar [A]x[B]x[E] + [C]x[D] x[E]	Totaal 5 jaar [F] x 5
Ratten	3	3	10	2	4	116	580

Per jaar worden gemiddeld 4 preservatie experimenten in ratten uitgevoerd. Dit brengt het totaal op **116** dieren per jaar. Voor 5 jaar zijn dit **580** dieren.

Er zijn minder pilot dieren nodig wanneer de opzet van het experiment, dus de perfusie, niet anders is dan bij een eerder experiment. Hierbij hebben we het over pompinstellingen en controleparameters. Hetzelfde geldt voor de controle groepen van de interventie experimenten.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: Momenteel is er geen goede andere mogelijkheid om de mogelijkheden van de perfusiemachines te testen dan door middel van proefdieren. Nieuwe ontwikkelingen laten steeds meer mogelijkheden voor artificiële modellen zien, echter staan deze technieken nog zodanig in de kinderschoenen dat we daarmee niet de totale mogelijkheden van de perfusiemachine mee kunnen testen.

Vermindering: Zo min mogelijk dieren worden gebruikt door middel van powercalculatie en door het meenemen van ervaringen uit eerdere experimenten. Uitval tijdens de nefrectomie is laag, bij afwijkende anatomie van een nier kan waar mogelijk de andere nier worden gebruikt.

Verfijning: Door algehele anesthesie tijdens de dubbelzijdige nefrectomie wordt gestreefd naar optimale pijnbestrijding.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Adequate algehele anesthesie.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Voor zover bekend uit de literatuur wordt dit model nog niet toegepast om te kijken naar de invloed van het complementsysteem op nierfunctie.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Geen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

n.v.t.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

n.v.t.

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Nefrectomie: Terminaal

Totaal: Terminaal

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Uitname van organen is noodzakelijk voor het bereiken van de primaire eindpunten.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|---------------------------|
| 3.4.4.3 | Ischemie/Reperfusie model |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Elke niertransplantatie gaat gepaard met ischemie/reperfusie (I/R) schade. Door het toenemende tekort aan donoren worden steeds vaker organen van marginale donoren gebruikt voor transplantatie, waarbij ook sprake is van hogere ischemietijden [Mange et al. N ENgl J Med 2001;344:726-31]. I/R schade kan acute en chronische transplantaatdisfunctie veroorzaken en uiteindelijk leiden tot het falen van het niertransplantaat. Kortom er is een toenemende behoefte aan interventies gericht op het verminderen van I/R schade in de getransplanteerde nier. Een van de belangrijkste mechanismen die ten grondslag ligt aan het ontstaan van I/R schade is lokale inflammatie in het transplantaat. Eerder heeft onze onderzoeksgroep aangetoond dat het complementsysteem betrokken is bij het ontstaan van deze inflammatie [unpublished data].

Keuze ischemie/reperfusie model:

Door middel van het I/R model (eenzijdige reperfusie) zijn wij in staat om nieuwe manieren voor interventie tijdens de ischemie periode te testen. Ons model simuleert de humane I/R schade goed, waardoor er sprake is van een hoge face validity. De reden waarom we voor eenzijdige reperfusie hebben gekozen is omdat er meestal ook maar één transplantaat wordt terug getransplanteerd. Om te bepalen welke ischemietijd optimaal is zullen we vooraf een pilot experiment doen waarbij de beste ischemietijd wordt bepaald. Hierdoor kan met zekerheid worden vastgesteld of er voldoende mate van I/R schade optreedt in ons I/R model in relatie tot onze onderzoeksvraag.

Uitkomstparameters:

De uitkomstparameters in het I/R model zijn de nierfunctie en de mate van nierschade. Wij hebben deze uitkomstparameters gekozen omdat deze parameters in de humane situatie ook als maatstaf voor nierfunctie worden gebruikt. Daarnaast zijn beide parameters valide te meten in dit I/R model. De nierfunctie zal worden gemeten aan de hand van de hoeveelheid creatinine en ureum in het plasma en

urine. De mate van nierschade wordt bepaald aan de hand van de mate van inflammatie, waarbij interleukine expressies worden bepaald.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Opzet:

Onder algehele anesthesie wordt middels mediane laparotomie het abdomen geopend. Vervolgens wordt renale ischemie geïnduceerd door het afklemmen van de renale arterie met twee klemmen. De duur van de ischemie is afhankelijk van de vraagstelling en kan zorgen voor het induceren van milde/matige/hoge nierschade. Na het verwijderen van de klemmen worden de nieren geïnspecteerd op het herstel van de reperfusie. Vervolgens wordt het abdomen gesloten. De dieren zullen afhankelijk van de vraagstelling 1-28 dagen postoperatief worden getermineerd. Bloed, urine en organen worden verzameld en opgeslagen.

Experiment* (fases)	Inductie ischemie	Perioden van monitoring	Terminatie + opslag
Tijdsbeloop (dagen)	T0	T1-28	T28

Niet aangegeven in tabel:

De duur zal minimaal 30 tot maximaal 45 minuten zijn, afhankelijk van de uitkomsten van onze pilot experimenten. In de pilotexperimenten zal de beste ischemietijd worden bepaald aan de hand van nierfunctie en nierschade, zoals bovengenoemd.

Wanneer nieuwe manieren worden getest zal dit zowel voor als na de operatie kunnen worden gedaan. Tijdstip van toediening is afhankelijk van de halfwaardetijd van het medicijn. Toedieningsweg wordt eveneens bepaald door type medicijn. Dit kan oraal, intraveneus, intramusculair, subcutaan of intra peritoneaal zijn.

*Voor zowel het pilot experiment als daadwerkelijke experiment gebruiken we in principe dezelfde proefopzet.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Op basis van eerdere experimenten kunnen we voor de meeste primaire uitkomstmaten een te verwachten effectgrootte voorspellen. Door middel van powercalculaties wordt daarmee het aantal dieren beperkt. Daarnaast zullen interindividuele verschillen tussen de dieren zo klein mogelijk worden gehouden om variatie tussen de dieren te beperken en daarmee het benodigde aantal dieren zo klein mogelijk te houden.

Daarnaast zullen we in het pilot experiment per keer één ischemietijd testen. Hierbij wordt op basis van de literatuur de meest gebruikte ischemietijd eerst getest. Mocht dit voldoende nierschade induceren zullen we de andere ischemietijd niet meer testen in het pilot experiment. Hiermee wordt het aantal dieren nodig voor het pilot experiment geminimaliseerd.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoorten: Muizen en ratten. Zowel wildtypes als genetisch gemodificeerde dieren. Muizen worden gebruikt omdat genetische modificatie veelgebruikt en makkelijker te bewerkstelligen is in muizen, zoals KO modellen. Beide, zowel muizen en ratten, worden gebruikt voor de overige medicatie types beschreven in de bijlage Projectvoorstel.

Herkomst: Aankoop van commerciële, erkende leveranciers of andere instellingen. Via samenwerkingsverbanden of eigen fok. Momenteel hebben we 5 genetisch gemodificeerde foklijnen in de CDP in Groningen. De herkomst van de dieren zal afhangen van de onderzoeksvraag.

Levensstadia: Volwassen dieren.

Geschatte aantallen: In het I/R model zullen zowel mechanistische als functionele vraagstellingen worden

getest. Op basis van poweranalyse zullen per groep 9 dieren worden aangevraagd. De inclusie van 8 dieren per groep is met een power van 80% en een standaarddeviatie van 10% voldoende [Alpha 0.05]. Echter houden wij rekening met een maximale uitval van 10% per groep, wat neer komt op 1 extra dier per groep. Deze uitval van maximaal 10% is gebaseerd op eerdere ervaringen met het I/R model, waarbij uitval werd veroorzaakt door te diepe anesthesie of overschrijding van het ongerief door te slechte nierfuncties. Voorafgaand zal zoals eerder benoemd een pilot experiment worden uitgevoerd, waarbij minimaal 1 ischemietijd en maximaal 3 ischemietijden worden getest. Hierbij hebben we genoeg aan 4 dieren per groep.

Opzet experiment:

PILOT EXPERIMENT:

Groep 1: experimentele groep → ischemietijd A (n=4)

Groep 2: experimentele groep → ischemietijd B (n=4)

Groep 3: experimentele groep → ischemietijd C (n=4)

Groep 4: controle groep → geen ischemie (n=4)

Totaal per pilot experiment: **16** dieren

INTERVENTIE EXPERIMENT:

Groep 1: Ischemietijd X → wel interventie (n=9)

Groep 2: Ischemietijd X → geen interventie (n=9)

Groep 3: Controle groep – geen ischemie → wel interventie (n=9)

Groep 4: Controle groep – geen ischemie → geen interventie (n=9)

Totaal per interventie experiment: **36** dieren

Diersoort	[A] Dieren per groep in pilot	[B] Groepen in pilot	[C] Aantal dieren per groep +uitval	[D]Aantal groepen/ Exp	[E] Aantal Exp per jaar	[F] Totaal per jaar [A]x[B]x[E]+[C]x[D]x[E]	Totaal 5 jaar [F] x 5
Muizen	4	4	9	4	1	52	260
Ratten	4	4	9	4	1	52	260
Totaal						104	520

Per jaar worden er gemiddeld 2 I/R experimenten in ratten en muizen uitgevoerd. Dit brengt het totaal op **104** dieren per jaar. Voor 5 jaar zijn dit **520** dieren.

Er zijn minder pilot dieren nodig wanneer de opzet van het experiment, dus de ischemietijd, niet anders is dan bij een eerder experiment. Daarbij mag de tijd tussen het uitvoeren van de experimenten niet groter dan 1 jaar zijn in verband met verschillen in muizen/ratten lijnen. Hetzelfde geldt voor de controle groepen van de interventie experimenten.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij

het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: Momenteel is er nog geen optimaal in vitro model om het in vivo I/R model mee te simuleren. Door middel van in vitro experimenten wordt waar mogelijk voorwerk verricht over de te verwachten effecten van het middel tijdens de dierproef.

Vermindering: Wij reduceren het aantal dieren door vooraf uitgevoerde powercalculaties. Meer dieren zullen tijdens het experiment niet worden gebruikt. Daarnaast zullen onze biotechnici de omstandigheden tijdens de proef optimaal houden, waardoor variatie wordt gereduceerd en daarmee het aantal benodigde dieren. Daarnaast zullen we in het pilot experiment maar een ischemietijd per keer testen, waarbij wordt gestart met de in de literatuur meest optimale ischemietijd.

Verfijning: Door goede algehele anesthesie en pijnstilling perioperatief wordt de pijn geminimaliseerd. Daarnaast zullen de dieren de dagen na I/R goed worden gemonitord om de algehele conditie te beoordelen. Wanneer discomfort wordt overschreden zal het dier worden getermineerd.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Perioperatief zal pijnmedicatie worden toegediend. Door adequate monitoring wordt voorkomen dat het vooraf vastgestelde ongerief niet wordt overschreven. Mocht dit wel het geval zijn zullen gepaste maatregelen worden genomen.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Het I/R model is een bekend model, die in de literatuur meermaals wordt beschreven. Om er zeker van te zijn dat dit model niet eerder in dezelfde toepassing is gebruikt, zal voorafgaand een literatuurstudie worden gedaan en wordt de database van de CDP geraadpleegd. Dit zal vooraf naar de IvD worden gecommuniceerd.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

Na I/R worden de dieren individueel gehuisvest in verband met de abdominale wond.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Waar nodig zal in overleg met de welzijnscommissie meer pijnstilling in de vorm van lokale pijnverlichting worden toegepast. Door goede monitoring van de dieren zal worden gemonitord of dit voldoende is of dat er andere gepaste maatregelen moeten worden genomen.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Door wondpijn, het bijkomen uit de narcose en het ontwikkelen van een nierinfarct.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Oorzaken wondpijn: niet goed sluiten van de wond, approximeren van de wond, wondinfectie.

Oorzaken slecht bijkomen van narcose: langdurig onder anesthesie.

Oorzaken ontwikkelen infarct: slechte reperfusie na ischemie.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Wondpijn: perioperatieve pijnstilling.

Narcose: goede monitoring na narcose, waar nodig antidotum.

Nierinfarct: symptomen van nierfalen monitoren, waar nodig relaparotomie of andere gepaste maatregelen.

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

- Nierfalen. Voor het bepalen van de nierfunctie zal creatinine worden gemeten. De creatininelevels zullen worden gebruikt als maat voor de nierfunctie en kunnen daarmee ook als drempelwaarde fungeren voor de ontwikkeling van nierfalen.
- Gewichtsverlies van meer dan 15%
- Inactiviteit van het dier
- Conditie van de vacht
- Ontstekingsverschijnselen

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Dit hangt af van het gebruik van wildtype dieren of genetische gemodificeerde dieren. Op basis van eerder uitgevoerde experimenten met het I/R model wordt het percentage geschat op maximaal 10%.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Ischemie/reperfusie schade: Matig

Injecties: Licht

Totaal: Matig

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Uitname van organen is noodzakelijk voor het bereiken van de primaire eindpunten.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|--------------------------|
| 3.4.4.4. | Niertransplantatie model |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Het grote tekort aan donororganen is onze drijfveer om te onderzoeken hoe efficiënter kan worden omgegaan met de beschikbare donornieren. Het tekort aan donornieren wordt veroorzaakt door de toenemende vraag aan donornieren bij een tekort in aanbod. Momenteel wachten veel mensen op een nier, het terugdringen van deze wachttijden is van belang. Niet alleen voor de ontvanger, maar ook omdat uit onderzoek is aangetoond dat transplantaatfunctie negatief geassocieerd is met de duur van dialyse in de ontvanger. Alhoewel allerlei factoren van invloed zijn op de uitkomst van de transplantatie, is het belangrijk ook kritisch te kijken naar de transplantatie zelf. Want ook tijdens transplantatie zelf wordt schade aan de nier veroorzaakt door ontstekingsprocessen. En ook hier speelt het complement systeem een belangrijke rol in.

Keuze van transplantatiemodel:

Ons transplantatiemodel modelleert de niertransplantatie op dezelfde manier als in de mens. De reden waarom het transplantatiemodel is opgenomen in deze aanvraag is omdat dit model ideaal is om te kijken naar graft survival. Hierdoor kunnen we kijken naar de rol/invloed van het complement systeem op graft survival. Daarnaast kunnen we door middel van interventie kijken of de graft survival verbeterd qua overlevingstijd (=kwalitatief) en qua aantallen (=kwantitatief). Dit is het enige model waarbij we zowel kwantitatief als kwalitatief kunnen kijken naar de invloed van complement interventie. Als aanvulling hierop stelt het transplantatie model ons in staat een follow-up te modelleren. Waarbij we in staat zijn zowel naar de acute als chronische gevolgen van transplantatie te kijken. Momenteel is het transplantatiemodel alleen beschikbaar in ratten, echter vragen wij in deze aanvraag ook muizen aan, omdat wij het model willen opzetten in muizen. Vandaar dat wij dit model voor beide diersoorten aanvragen.

Uitkomstparameters:

De uitkomstparameters zijn de nierfunctie en de mate van nierschade. Wij hebben deze uitkomstparameters gekozen omdat deze parameters in de humane situatie ook als maatstaf voor nierfunctie worden gebruikt. Daarnaast zijn beide parameters valide te meten in dit model. De nierfunctie zal worden gemeten aan de hand van de hoeveelheid creatinine en ureum in het plasma en urine. De mate van nierschade wordt bepaald aan de hand van de mate van inflammatie, waarbij interleukine expressies worden bepaald.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Opzet:

DONOREN

Bij de donoren zal afhankelijk van de vraagstelling al dan niet een eerder genoemd model in bijlagen 1, 2 en 3 worden toegepast. Oftewel een combinatie van dit model met het hersendoodmodel, de preservatietechnieken of het ischemie/reperfusie model is mogelijk. Er vindt dubbelzijdige nefrectomie plaats onder algehele anesthesie. De volgende anatomische structuren worden vrijgeprepareerd: ureters, aorta caudaal van arteria renalis en de niervaten. Allen worden gecanuleerd en geflusht. Na nefrectomie wordt het dier getermineerd. Bloed, urine en organen worden uitgenomen en opgeslagen. Een van beide nieren wordt, afhankelijk van de anatomie gerecentreerd. De andere nier zal na uitname fungeren als controle voor de nierfunctie in de donor.

ONTVANGERS

De dieren die het transplantaat ontvangen zullen onder algehele anesthesie een enkelvoudige nefrectomie van een natieve nier ondergaan. Vervolgens krijgen de dieren een transplantaatnier. Na transplantatie zullen bloed en urine samples worden genomen. Na een bepaalde tijdsduur zullen de dieren worden getermineerd. Bloed, urine en organen worden uitgenomen en opgeslagen.

Afhankelijk van de vraagstelling wordt gebruik gemaakt van wildtype en/of genetisch gemodificeerde dieren. Daarnaast zal afhankelijk van de vraagstelling een middel worden toegediend in de donor en/of ontvanger. Dit kan oraal, intraveneus, intramusculair, subcutaan of intra peritoneaal zijn.

Een pilot experiment zal vooraf worden uitgevoerd om de optimale omstandigheden van transplantatie te bepalen. Hierbij moet worden gedacht aan het optimaliseren van de warme ischemietijden.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Op basis van eerdere experimenten kunnen we voor de meeste primaire uitkomstmaten een te verwachten effectgrootte voorspellen. Door middel van powercalculaties wordt daarmee het aantal dieren beperkt. Daarnaast zullen interindividuele verschillen tussen de dieren zo klein mogelijk worden gehouden om variatie tussen de dieren te beperken en daarmee het benodigde aantal dieren zo klein mogelijk te houden.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoorten: Muizen en ratten.

Herkomst: Aankoop van commerciële, erkende leveranciers of andere instellingen. Via samenwerkingsverbanden of eigen fok. Momenteel hebben we 5 genetisch gemodificeerde foklijnen in de CDP. De herkomst van de dieren zal afhangen van de onderzoeksvraag.

Levensstadia: Volwassen dieren.

Geschatte aantallen: Met het transplantatiemodel zullen zowel mechanistische als functionele vraagstellingen worden onderzocht. Op basis van poweranalyse zullen per groep 10 dieren worden aangevraagd. De inclusie van 8 dieren per groep is met een power van 80% en een standaarddeviatie van 10% voldoende [α 0.05].

Uitval:

Echter houden wij rekening met een maximale uitval van 20% per groep, wat neer komt op 2 extra dieren per groep. Deze uitval van maximaal 20% komt door bijvoorbeeld een afwijkende anatomie of technische complicatie. Voorafgaand zal zoals eerder benoemd een pilot experiment plaatsvinden. Hierbij wordt

minimaal 1 conditie getest en maximaal 3. Hierbij moet worden gedacht aan het optimaliseren van warme ischemietijden.

Opzet experiment:

PILOT EXPERIMENT:

Groep 1: Conditie A (n=4 donors, n=4 ontvangers)

Groep 2: Conditie B (n=4 donors, n=4 ontvangers)

Groep 3: Conditie C (n=4 donors, n=4 ontvangers)

Totaal per pilot experiment: **24** dieren

INTERVENTIE EXPERIMENT:

Groep 1: Tx → wel interventie (n=10 donors, n=10 ontvangers)

Groep 2: Tx → geen interventie (n=10 donors, n=10 ontvangers)

Groep 3: Controle groep → wel interventie (n=10 donors, n=10 ontvangers)

Groep 4: Controle groep → geen interventie (n=10 donors, n=10 ontvangers)

Totaal per interventie experiment: **80** dieren

Dieren	[A]Donors pilot	[B]Ontvangers pilot	[C]Groups pilot	[D]Donors exp	[E]Ontvangers exp	[F]Groups exp	[G]Totaal /jaar [A+Bx C]+[D +ExF}	Totaal /5 jaar [G]x5
Muizen	4	4	3	10	10	4	104	520
Ratten	4	4	3	10	10	4	104	520
Totaal							208	1040

Per jaar wordt gemiddeld 1 transplantatie experiment in ratten uitgevoerd. Echter willen we het transplantatiemodel ook lopend maken in muizen. Dus gaan wij uit van 2 transplantatiemodellen per jaar. Dit brengt het totaal op **208** dieren per jaar. Voor 5 jaar zijn dit **1040** dieren. Mocht het niet lukken het transplantatiemodel lopend te maken in muizen, zullen de dieren aangevraagd onder kopje muizen niet worden gebruikt.

Criteria Transplantatiemodel muizen

GO/NO GO 1: Het transplantatiemodel zal alleen worden opgezet in muizen wanneer meerdere onderzoeksvragen worden beantwoord. Kortom we moeten aan de hand van de experimenten iets kunnen zeggen over: graft survival, de rol van het complement systeem op deze graft survival en de daarbij behorende acute/chronische complicaties.

GO/NO GO 2: Het transplantatiemodel zal alleen worden opgezet wanneer er een goede basis is. Dit houdt in dat er genoeg kennis is vergaard met de andere drie beschreven modellen. Kortom: mechanistische en functionele vraagstellingen zullen eerst moeten zijn getest of onderzocht in de andere modellen, voordat ze worden toegepast op het transplantatiemodel. De resultaten in de moeten positief zijn.

GO/NO GO 3: De pilot studie moet goede resultaten laten zien. Dit betekent dat binnen het aantal beschikbare dieren het model geoptimaliseerd moet zijn. Als tijdens deze pilot studie blijkt dat de gestelde doelen met betrekking tot bijvoorbeeld ischemietijd of bijvoorbeeld overlevingsduur na transplantatie niet haalbaar is, zal er niet worden doorgegaan met het valideren van dit model.

GO/NO GO 4: Als tijdens het experiment blijkt dat bepaalde groepen in het transplantatiemodel te kwetsbaar zijn [geen goede resultaten, veel ongerief of zelfs sterfte] zal het experiment worden stopgezet.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: Momenteel is er nog geen in vitro model aanwezig waarin ons beschreven project kan worden verricht.

Vermindering: zo min mogelijk dieren worden gebruikt door middel van powercalculatie en het meenemen van ervaringen uit eerdere experimenten. Bij het uitvoeren zullen we tevens gebruik maken van de expertise van het microchirurgisch team van de CDP. Daarnaast zullen we in het pilot experiment maar een conditie per keer testen, waarbij wordt gestart met de in de literatuur meest optimale conditie.

Verfijning: Perioperatief zal pijnstilling worden gegeven. De dagen na de operatie zullen de dieren extra worden gemonitord op ongerief. Er zal gelet worden op discomfort en zo nodig gepaste maatregelen worden genomen.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Perioperatief zal pijnstilling worden gegeven. Daarnaast kunnen creatininelevels in het urine worden bepaald om inzicht te krijgen in de nierfunctie en het risico op het ontwikkelen van nierfalen.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Voor zover bekend uit literatuurstudies is het transplantatiemodel nog niet eerder in deze context toegepast.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

Na transplantatie zullen de dieren individueel worden gehuisvest.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Adequate anesthesie en pijnbestrijding perioperatief.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Door wondpijn, het bijkomen uit de narcose en het ontwikkelen van een nierinfarct.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Oorzaken wondpijn: niet goed sluiten van de wond, approximeren van de wond, wondinfectie.

Oorzaken slecht bijkomen van narcose: langdurig onder anesthesie.

Oorzaken ontwikkelen infarct: slechte reperfusie na ischemie.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Wondpijn: perioperatieve pijnstilling.

Narcose: goede monitoring na narcose, waar nodig antidotum.

Nierinfarct: symptomen van nierfalen monitoren of andere gepaste maatregelen.

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

- Nierfalen. Voor het bepalen van de nierfunctie zal creatinine worden gemeten. De creatininelevels zullen worden gebruikt als maat voor de nierfunctie en kunnen daarmee ook als drempelwaarde fungeren voor de ontwikkeling van nierfalen.
- Gewichtsverlies van meer dan 15%
- Inactiviteit van het dier
- Conditie van de vacht
- Ontstekingsverschijnselen

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Dit hangt af van het gebruik van wildtype dieren of genetische gemodificeerde dieren. Op basis van eerder uitgevoerde experimenten met het transplantatie model wordt het percentage geschat op 20%, zoals aangegeven in B.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Donoren:

Dubbelzijdige nefrectomie en terminatie onder anesthesie [terminaal]

Injecties

[licht]

Ontvanger:

Niertransplantatie en enkelvoudige nefrectomie [ernstig]

Nefrectomie native nier [ernstig]

Injecties [licht]

Het totale ongerief bij de dieren is voor de donoren geschat op terminaal ongerief. Voor de dieren die het transplantaat ontvangen wordt het totale ongerief op ernstig geschat. Omdat de dieren zowel een dubbelzijdige nefrectomie als een niertransplantatie onder anesthesie zullen ondergaan.

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Uitname van organen is noodzakelijk voor het bereiken van de primaire eindpunten.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja

Format DEC-advies

Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de Praktische Handreiking: Ethisch Toetsingskader voor proefdiergebruik. Voor voorbeelden, zie bijlage I.

Herhaling van antwoorden is niet nodig. Indien van toepassing kan verwezen worden naar een bij een eerdere vraag verstrekt antwoord.

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: Interne RUG code **8075**
2. Titel van het project: **Het verbeteren van uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem**
3. Titel van de NTS: **Het verbeteren van uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem.**
4. Type aanvraag:
X nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: **DEC-RUG**
 - telefoonnummer contactpersoon [REDACTED]
 - e-mailadres contactpersoon: [REDACTED]
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC: **07-12-2017**
 - aanvraag compleet **07-12-2017**
 - in vergadering besproken **15-12-2017**
 - anderszins behandeld **16-03-2017**
 - termijnonderbreking(en) van / tot **19-12-2016 tot 09-03-2017**
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen **n.v.t.**
 - aanpassing aanvraag **09-03-2017**
 - advies aan CCD: **30-03-2017**
7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD.
De IvD heeft aangegeven dat de aanvraag met de IvD is afgestemd.
8. Eventueel horen van aanvrager **n.v.t.**
 - Datum
 - Plaats
 - Aantal aanwezige DEC-leden
 - Aanwezige (namens) aanvrager
 - Gestelde vraag / vragen
 - Verstrekt(e) antwoord(en)
 - Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag
9. Correspondentie met de aanvrager
Datum **19-12-2016**

- **Vragen/opmerkingen t.a.v. de projectbeschrijving**

- In # 3.2 stelt u als projectdoel : 'De hypothese luidt dat de activering van het complement systeem in de verschillende fasen van de niertransplantatie: (1) in de donor, (2) tijdens preservatie, (3) tijdens transplantatie en (4) in de ontvanger resulteert in een verminderde transplantaatfunctie', met als centrale vraag: 'Welke nieuwe middelen/strategieën die specifiek aangrijpen in het complement systeem verbeteren de transplantaatfunctie?'
-
- In # 3.4 blijkt dat hierbij gedacht wordt aan: - *knock-out modellen, complement remmers, complement upregulatoren en complement regulatoire eiwitten.*
- Hierbij wordt niet vermeld of en zo ja welke middelen (bv remmers) inmiddels ontwikkeld zijn en toegepast zullen gaan worden (en in welke aantallen dieren). Ook wordt niet beschreven welke complement genen men zou willen 'outknocken'; in de bijlages wordt vermeld dat er 5 KO lijnen in het CDP aanwezig zijn maar informatie over welke dit zijn en hoe ze ingezet worden in het onderzoek (en in welke aantallen) ontbreekt. Informatie over specifiek te onderzoeken complement (up)regulatoren/pathways ontbreekt ook.
- Met andere woorden, hoe de aangevraagde aantallen dieren per bijlage en per benadering worden ingezet voor het beantwoorden van de onderzoeksvraag is niet navolgbaar.
- Zoals nu geformuleerd vraagt deze aanvraag in feite om een vrijbrief om de komende 5 jaar met de modellen (beschreven in de bijlages) verder te mogen gaan onder condities en met farmaca die 'we dan wel zullen zien'.
- De DEC vraagt u daarom om:
 - 1/ beter te concretiseren op welke complement factoren/pathways gericht wordt met de verschillende benaderingen (remmers, KO dieren etc) .
 - 2/ Hierbij zal niet alleen per model (lees bijlage) , maar ook per benadering (remmers, KO dieren etc) de benodigde aantallen nader onderbouwd moeten worden, bij voorkeur met gebruik van een poweranalyse.
 - 3/ T.a.v. het muis niertransplantatie model zou nog nader beschreven moeten worden wat de go/no go criteria zijn hiervoor.

- Datum antwoord: **09-03-2017**

- **Verstrekt(e) antwoord(en):**

Punt 1:

Beter te concretiseren op welke complement factoren/pathways gericht wordt met de verschillende benaderingen (remmers, KO dieren etc).

Aanpassingen:

- Projectvoorstel [REDACTED] #3.2 Doel. 'Hoewel onderzoek heeft aangetoond dat het... dat nierschade tijdens niertransplantatie verminderd.'
- Projectvoorstel [REDACTED] #3.2 Doel. 'Hoofdvraag: Welke rol speelt... tijdens niertransplantatie?'
- Projectvoorstel [REDACTED] #3.4 Onderzoeksstrategie. #3.4.1. 'Het doel van ons onderzoek is tweeledig:... waarin het complement systeem wordt geactiveerd.'
- Projectvoorstel [REDACTED] #3.4 Onderzoeksstrategie. #3.4.3. Kopje Transplantatiemodel. 'Voor het transplantatiemodel (bijlage 4)... uit een eerder model negatieve resultaten zijn verkregen.'
- Projectvoorstel [REDACTED] #3.4 Onderzoeksstrategie. #3.4.3. Kopje Mijlpalen. 'Dit kan betekenen dat een middel ook eerst... ,zal dit middel niet worden gebruikt in een model.'

Punt 2:

Hierbij zal niet alleen per model, maar ook per benadering (remmers, KO dieren etc) de benodigde aantallen nader onderbouwd moeten worden, bij voorkeur met gebruik van een poweranalyse.

Aanpassingen:

- Bijlage 3.4.4.1. Hersendoodinductie. #B de dieren. Hele stuk zijn aanpassingen gedaan. Specifiek: 'Het hersendoodmodel zal gebruik worden voor... functionele vraagstellingen.
- Bijlage 3.4.4.1. Hersendoodinductie. # B de dieren. Opzet experiment. Tabel aangepast.
- Bijlage 3.4.4.2. Preservatietechnieken. #B de dieren. Stuk geschatte aantallen aangepast.
- Bijlage 3.4.4.2. Preservatietechnieken. #B de dieren. Opzet experiment. 'Er zijn minder pilot dieren nodig... groepen van de interventie experimenten.'
- Bijlage 3.4.4.3. Ischemie/reperfusie. #B de dieren. Stuk geschatte aantallen aangepast.
- Bijlage 3.4.4.3. Ischemie/reperfusie. #B de dieren. Opzet experiment. 'Er zijn minder pilot dieren nodig.. groepen van de interventie experimenten.'
- Bijlage 3.4.4.4. Niertransplantatie #B de dieren. Stuk geschatte aantallen aangepast.

Punt 3:

T.a.v. het muis niertransplantatie model zou nog nader beschreven moeten worden wat de go/no go criteria zijn hiervoor.

Aanpassingen:

- Projectvoorstel [REDACTED] #3.4 Onderzoeksstrategie. #3.4.3. Kopje Transplantatiemodel. 'Voor het transplantatiemodel (bijlage 4)... uit een eerder model negatieve resultaten zijn verkregen.'
 - Bijlage 3.4.4.4. #Onderdeel A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters. # Keuze van transplantatiemodel. 'De reden waarom het transplantatiemodel is... het model willen opzetten in muizen.'
 - Bijlage 3.4.4.4. Niertransplantatie. #B de dieren. Criteria transplantatiemodel muizen toegevoegd.
- De in de antwoorden aangeduide concretisering hebben geleid tot adequate aanpassing van de aanvraag**

10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC) **n.v.t.**

- Aard expertise
- Deskundigheid expert
- Datum verzoek
- Strekking van het verzoek
- Datum expert advies
- Advies expert

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is. **Ja**
Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies.
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag / een wijziging op een bestaande vergunning. **Nieuwe aanvraag**
3. Is de DEC competent om hierover te adviseren? **Ja**
4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Indien van toepassing, licht toe waarom. **N.v.t.**

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft (*Zie handreiking 'Invulling definitie project'; zie bijlage I voor toelichting en voorbeeld*).

Deze aanvraag heeft een concrete doelstelling en kan getypeerd worden als een project. De subdoelen zijn allemaal noodzakelijk om de doelstelling te behalen. Het is helder welke handelingen en ongerief individuele dieren zullen ondergaan. De aanvrager heeft zowel binnen de doelstellingen als tussen de doelstellingen criteria beschreven op basis van welke criteria deze zal besluiten het project wel of niet te continueren. De DEC vertrouwt erop dat de aanvrager gedurende het project op zorgvuldige wijze besluiten zal nemen over de voortgang van het project en er niet onnodig dieren gebruikt zullen worden. Gezien bovenstaande is de DEC van mening dat de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft.

2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Wet Natuurbescherming).

Voor zover de DEC de mogelijke tegenstrijdigheid kan beoordelen is er geen aanleiding om deze strijdigheid met andere relevante wettelijke bepalingen aanwezig te achten. De DEC wil wel stellen dat deze signaleringsfunctie niet tot de wettelijke taken van de DEC behoort. *Mochten de DEC-RuG signalen bereiken aangaande mogelijke tegenstrijdigheid met wettelijke bepalingen dan zal zij onverwijld de vergunninghouder daarvan op de hoogte stellen.*

3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel. **De doelcategorie sluit aan bij de hoofddoelstelling.**

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C4; zie bijlage I voor voorbeeld*).

Het directe doel van dit project is om de negatieve rol die activering van het complement systeem kan spelen in de verschillende fasen van niertransplantatie gedetailleerd in kaart te brengen.

Het uiteindelijke doel is om op basis van de vergaarde kennis (nieuwe) strategieën te ontwikkelen die de functionaliteit van de getransplanteerde nier kan verbeteren c.q. verlengen.

Er is een directe relatie tussen het directe en het uiteindelijke doel. Het uiteindelijke doel zal mogelijk niet binnen de looptijd van het project gehaald kunnen worden. Het project is gericht op fundamenteel en translationeel onderzoek m.b.t. het hierboven beschreven (directe) doel. De aanvrager heeft duidelijk gemaakt wat dit project kan bijdragen aan het onderzoeksveld en het directe doel is dus gerechtvaardigd binnen de context van het onderzoeksveld.

5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld*)

De belangrijkste belanghebbenden in dit fundamentele/translationele project zijn de proefdieren, en de patiënten met sterk verminderde nierfunctie.

Waarden die voor proefdieren in het geding zijn: de integriteit van de dieren zal worden aangetast, de dieren zullen beperkt worden in hun natuurlijke gedrag en gedurende de proeven zullen de dieren stress ondervinden en ongerief ondergaan als gevolg van met niertransplantatie samenhangende ingrepen bij zowel de donor als de ontvanger. Aan het einde van de proef zullen de dieren opgeofferd worden.

Waarden die voor nierpatiënten bevorderd worden: een potentiële verbetering en verlenging van de functionaliteit van de getransplanteerde nier.

6. Is er aanleiding voor de DEC om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken?

Voor zover de DEC de beschreven effecten op het milieu kan beoordelen is er geen aanleiding om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu te betrekken. De DEC wil wel stellen dat deze signaleringsfunctie niet tot de wettelijke taken van de DEC behoort. Mochten de DEC-RuG signalen bereiken aangaande mogelijke effecten op het milieu dan zal zij onverwijld de vergunninghouder daarvan op de hoogte stellen.

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C5*).

Voor zover de DEC kan beoordelen zijn de kennis en kunde van de onderzoeksgroep adequaat gezien de wetenschappelijke output alsmede de aandacht voor de drie V's

8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C6*). **De DEC is ervan overtuigd dat het projectvoorstel aansluit bij recente wetenschappelijke inzichten en geen hiaten bevat die de bruikbaarheid van de resultaten in de weg zullen staan. De voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters zijn logisch en helder gekozen en sluiten aan bij de aangegeven doelstellingen en de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen naar de mening van de DEC leiden tot het behalen van de doelstelling in het kader van het project.**

Welzijn dieren

9. Geef aan of er sprake is van één of meerdere bijzondere categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Beoordeel of de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk is onderbouwd en of de aanvrager voldoet aan de in de Wet op de Dierproeven (Wod), voor de desbetreffende categorie genoemde beperkende voorwaarden. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C1; zie bijlage I voor toelichting en voorbeelden*). **N.v.t.**

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. **De DEC heeft zich ervan verzekerd dat huisvesting en verzorging volgens de richtlijn gebeurt. Dit op basis van de daartoe strekkende verklaring van zowel de vertegenwoordiger van de vergunninghouder als de aanvrager onder respectievelijk punt 6 van de ondertekening van de aanvraag en punt F van de bijlage.**

11. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). **Dit is naar de mening van de DEC realistisch ingeschat. De DEC vertrouwt erop dat de aanvrager al het mogelijke zal doen om het ongerief voor de proefdieren te identificeren, en waar mogelijk te**

verminderen.

12. Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake is van aantasting van integriteit. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). (*zie bijlage I voor voorbeeld*). **De integriteit van het dier wordt aangetast door alle, chirurgische en niet-chirurgische, ingrepen die samenhangen met het voorbereiden en uitvoeren van een niertransplantatie, uiteindelijk leidend tot opoffering van zowel donor als ontvanger**
13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). **Naar de mening van de DEC zijn de criteria voor humane eindpunten in deze aanvraag goed beschreven.**

3V's

14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). **De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. De complexe rol die het complement systeem vóór, tijdens en na niertransplantatie kan spelen is in vitro niet na te bootsen.**
15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). **Naar de mening van de DEC is het aantal te gebruiken dieren realistisch ingeschat en wel zodanig dat niet meer dan nodig, maar ook niet minder dan nodig dieren worden gebruikt voor het behalen van een betrouwbaar wetenschappelijke resultaat, zulks mede gebaseerd op de door de aanvrager aangeleverde literatuur referenties en power analyses.**
16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). **De DEC heeft zich ervan verzekerd dat de aanvrager al het mogelijke zal doen om het ongerief voor de proefdieren te identificeren, en waar mogelijk te verminderen. Dit blijkt onder andere uit de zorgvuldige beschrijving van de experimentele omstandigheden en beschikbare microchirurgische expertise bij de uitvoering van de experimenten.**
17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Licht uw beoordeling toe. **Voor zover de DEC kan beoordelen zijn de kennis en kunde van de onderzoeksgroep adequaat en mede gezien het daartoe strekkende antwoord van de aanvrager in de projectaanvraag heeft de DEC reden aan te nemen dat onnodige duplicatie achterwege blijft**

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in

voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd. (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*; zie *bijlage I* voor voorbeeld). **In de onderhavige projectaanvraag worden mannelijke en vrouwelijke proefdieren in gelijke mate gebruikt. Alhoewel de DEC-RUG vermindering van proefdieren in voorraad gedood toejuicht is zij overigens van mening dat dit aspect met name met de centrale dienst proefdieren en de aanvrager kortgesloten dient te worden daar de DEC niet betrokken is bij de fok en aankoop van proefdieren.**

19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Indien van toepassing, geeft ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). **Naar de mening van de DEC is dit genoegzaam beschreven in de projectaanvraag door de aanvrager. Zowel de donoren als de ontvangers van het nier transplantaat worden na afloop opgeofferd, in voorkomende gevallen onder uitzondering van organen ter nadere *ex vivo* bestudering. De dieren worden gedood volgens een in bijlage IV vermelde dodingsmethode.**
20. Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is. **N.v.t.**

NTS

21. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?
Naar de mening van de DEC is zulks het geval.

D. Ethische afweging

Rechtvaardigen de doelstellingen van het project dat ten doel heeft **het verbeteren van de uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem** het ongerief dat de proefdieren wordt aangedaan in het onderhavige project?

Waarden die voor de proefdieren in het geding zijn: **matig tot ernstig ongerief**.
Waarden die voor de doelgroep bevorderd worden: **potentieel groot voordeel**.
Algemeen: **identificatie van nieuwe aangrijpingspunten voor interventie in het complementsysteem, teneinde de functie en de overleving van niertransplantaten te verbeteren**.

De DEC-RUG is van mening dat de belangen van de samenleving – hier patiënten met (dreigend) nierfalen - zwaarder wegen dan de belangen/waarden van de proefdieren waarmee dit onderzoek wordt uitgevoerd in het project '**Het verbeteren van uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem**'. De betrokken proefdieren zullen in dit project matig tot ernstig ongerief ondervinden. Zij worden in hun welzijn geschaad door uitzondering van een nier al of niet gevolgd door het ontvangen van een niertransplantaat, uiteindelijk gevolgd door opoffering.

(Dreigend) nierfalen is een buitengewoon ernstige, chronische ziekte. Behalve nierdialyse, die de kwaliteit van leven sterk belast, is niertransplantatie een optie die in het algemeen succesvol is op korte termijn, maar die op langere termijn vaak leidt tot uitval van het transplantaat. Er zijn sterke aanwijzingen

dat activering van het complement systeem tijdens de verschillende fasen van de transplantatie, mede afhankelijk van de kwaliteit van de donornier, hierin een belangrijke rol speelt. Het voorliggende project beoogt aangrijpingspunten in het complementsysteem te identificeren die in aanmerking kunnen komen voor gerichte medicamenteuze interventie, potentieel leidend tot verbetering en verlenging van de transplantaat-functie en overleving van de patiënt. Vandaar dat de DEC-RUG het onderhavige onderzoek, zowel vanuit wetenschappelijk als vanuit maatschappelijk oogpunt, van substantieel belang acht.

Daarom beantwoordt de De DEC-RUG de centrale morele vraag: Rechtvaardigt de doelstelling van het project **'Het verbeteren van uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem'** het matig tot ernstige ongerief, gevolgd door opoffering, dat de dieren wordt aangedaan, in het voorliggende project bevestigend.

Hoewel de DEC-RUG de intrinsieke waarde van het dier onderschrijft en oog heeft voor het te ondergane matige tot ernstige ongerief van de proefdieren, weegt het reële belang van dit project naar haar mening zwaarder. De DEC-RUG is van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De onderzoekers hebben in voorgaande onderzoekprogramma's aangetoond te beschikken over de benodigde kennis en technische expertise. Er is geen sprake van duplicatie.

In de gekozen strategie wordt op bevredigende wijze tegemoetgekomen aan de vereisten van vervanging, vermindering en verfijning. Dit blijkt onder andere uit de gedetailleerde onderbouwing van het aantal benodigde dieren en de ingebouwde go/no go momenten bij sommige experimentele onderdelen van het project. De DEC-RUG is ervan overtuigd dat de aanvrager voldoende maatregelen treft om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken. De DEC-RUG is er eveneens van overtuigd dat er geen alternatieven zijn, waardoor deze dierproef met minder ongerief of met minder, dan wel zonder levende dieren zou kunnen worden uitgevoerd.

Op grond van deze overwegingen beschouwt de DEC-RUG het voorgestelde project **'Het verbeteren van uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem'**, als ethisch gerechtvaardigd en voorziet de DEC-RUG derhalve het onderhavige projectvoorstel van een positief advies.

E. Advies

1. Advies aan de CCD
X De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

2. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.B*).

Zoals aangegeven onder vraag 9 ('Correspondentie met de aanvrager') had de DEC vooral behoefte aan nadere specificatie van de voorgenomen (genetische of farmacologische) modificatie van complement factoren c.q. pathways. In de revisie van de aanvraag is de onderzoeker erin geslaagd de

verlangde precisering te verschaffen. In de discussie over deze projectaanvraag binnen de DEC zijn geen knelpunten of dilemma's aan de orde geweest.

De DEC is overigens niet gewoon projectaanvragen buiten de context c.q. haar verantwoordelijkheid en competentie te beoordelen.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1
9713 AV GRONINGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD1050020171245

Bijlagen

2

Datum 30 maart 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 30 maart 2017. Het gaat om uw project "Het verbeteren van uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem.". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD1050020171245. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Factuur

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te voldoen, zodat we uw aanvraag in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan kan uw aanvraag buiten behandeling worden gesteld. Dit betekent dat uw aanvraag niet beoordeeld wordt en u uw project niet mag starten.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Datum:

30 maart 2017

Aanvraagnummer:

AVD1050020171245

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:
30 maart 2017
Aanvraagnummer:
AVD1050020171245

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 10500
Naam instelling of organisatie: Rijksuniversiteit Groningen
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: 1179037
Straat en huisnummer: A. Deusinglaan 1
Postcode en plaats: 9713 AV GRONINGEN
IBAN: NL45ABNA0474567206
Tenaamstelling van het
rekeningnummer: Rijksuniversiteit Groningen

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Afdeling: [REDACTED]
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u?

- Nieuwe aanvraag
 Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
 Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Datum:

30 maart 2017

Aanvraagnummer:

AVD050020171245

Over uw project

Geplande startdatum:

1 april 2017

Geplande einddatum:

1 april 2022

Titel project:

Het verbeteren van uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem.

Titel niet-technische samenvatting:

Het verbeteren van uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem.

Naam DEC:

DEC-RUG

Postadres DEC:

A. Deusinglaan 1, [REDACTED]

E-mailadres DEC:

secrdec.umcg@umcg.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen:

€ 1.684,-

De leges voldoet u:

na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen:

- Projectvoorstel
 Beschrijving Dierproeven
 Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen:

- DEC-advies

Ondertekening

Naam:

[REDACTED]

Functie:

[REDACTED]

Plaats:

Groningen

Datum:

30 maart 2017



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

[REDACTED]
A. Deusinglaan 1
9713 AV GRONINGEN
[POSTNET]

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD1050020171245

Bijlagen

2

Datum 30 maart 2017
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 30 maart 2017
Vervaldatum: 29 april 2017
Factuurnummer: 171245

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD1050020171245	€ 1.684,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL29INGB 070.500.1512 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1
9713 AV GRONINGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD1050020171245

Datum 12 april 2017
Betreft aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED],

Op 30 maart 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Het verbeteren van uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem." met aanvraagnummer AVD1050020171245. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om uw aanvraag verder te kunnen beoordelen:

Niet technische samenvatting

Kunt u in de NTS de termen 'complement systeem' en 'transgenese' uitleggen of daar andere termen voor gebruiken?

In de NTS moet per diersoort aangegeven worden hoeveel dieren er gebruikt worden. Kunt u het aantal dieren opsplitsen in het aantal muizen en het aantal ratten?

Onder 4.3 (algemeen maatregelen om negatieve gevolgen te beperken) geeft u aan dat de dieren geen angst zullen ervaren. Gezien de handelingen zullen de dieren wel degelijk angst ondervinden. Wilt u dit aanpassen?

Onduidelijkheden

Onder het belang van het onderzoek (Projectvoorstel 3.3) beschrijft u wat er al uitgevoerd is. Kunt u een nieuw Projectvoorstel sturen waarin u onder wetenschappelijk en maatschappelijk belang ingaat op het belang van onderliggend project?

Kunt u voor iedere bijlage aangeven of er mannelijke of vrouwelijke dieren gebruikt worden, of dat het geslacht van de dieren er niet toe doet en beide geslachten in gelijke mate worden gebruikt?

Datum:
12 april 2017
Aanvraagnummer:
AVD1050020171245

Voor Bijlage Dierproeven 3.4.4.1 vraagt u dieren aan voor de pilot. Wordt deze pilot ieder jaar uitgevoerd, of eenmalig? Indien dit eenmalig is, wilt u dan een nieuwe Bijlage Dierproeven sturen waarin het totaal aantal dieren is aangepast en het aantal in de NTS ook aanpassen?

De donordieren van Bijlage Dierproeven 3.4.4.4 hebben terminaal en licht ongerief, zo geeft u aan onder 2K. Kunt u, om het cumulatief ongerief te kunnen inschatten, aangeven of de injecties worden gegeven onder anesthesie, of vóór de operatie?

Leges

De leges die u verschuldigd bent zijn nog niet door ons ontvangen of de betaling is nog niet verwerkt. Uw aanvraag is niet compleet als de leges niet zijn ontvangen.

Zonder deze aanvullende informatie kan de beslissing nadelig voor u uitvallen omdat de gegevens onvolledig of onduidelijk zijn.

Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Stuur u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt.

Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Bijlagen:

- Melding bijlagen
- Niet technische samenvatting



Melding bijlagen

U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen? Voeg altijd deze Melding Bijlagen toe. Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt. Meer informatie vindt u op www.centralecommissiedierproeven.nl Of bel met ons: 0900 28 000 28 (10 ct/min).

1 Uw Gegevens

Naam instelling: Rijksuniversiteit Groningen

Adres:

Postcode en plaats:

Aanvraagnummer: AVD1050020171245

2 Bijlagen

Welke bijlagen stuurt u mee?

Vink de bijlagen aan of vul de naam of omschrijving in.

Projectvoorstel

Beschrijving Dierproeven

Niet-technische samenvatting

Melding Machtiging

Aanvraagformulier

.....

.....

.....

Datum:

12 april 2017

Aanvraagnummer:

AVD1050020171245

3 Ondertekening

Naam:

Datum: - -

Handtekening:

Onderteken het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:
Centrale Commissie Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag



Format

Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. _____
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX Universitair Medisch Centrum Groningen
- 1.3 Vul de titel van het project in. Het verbeteren van uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem.

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

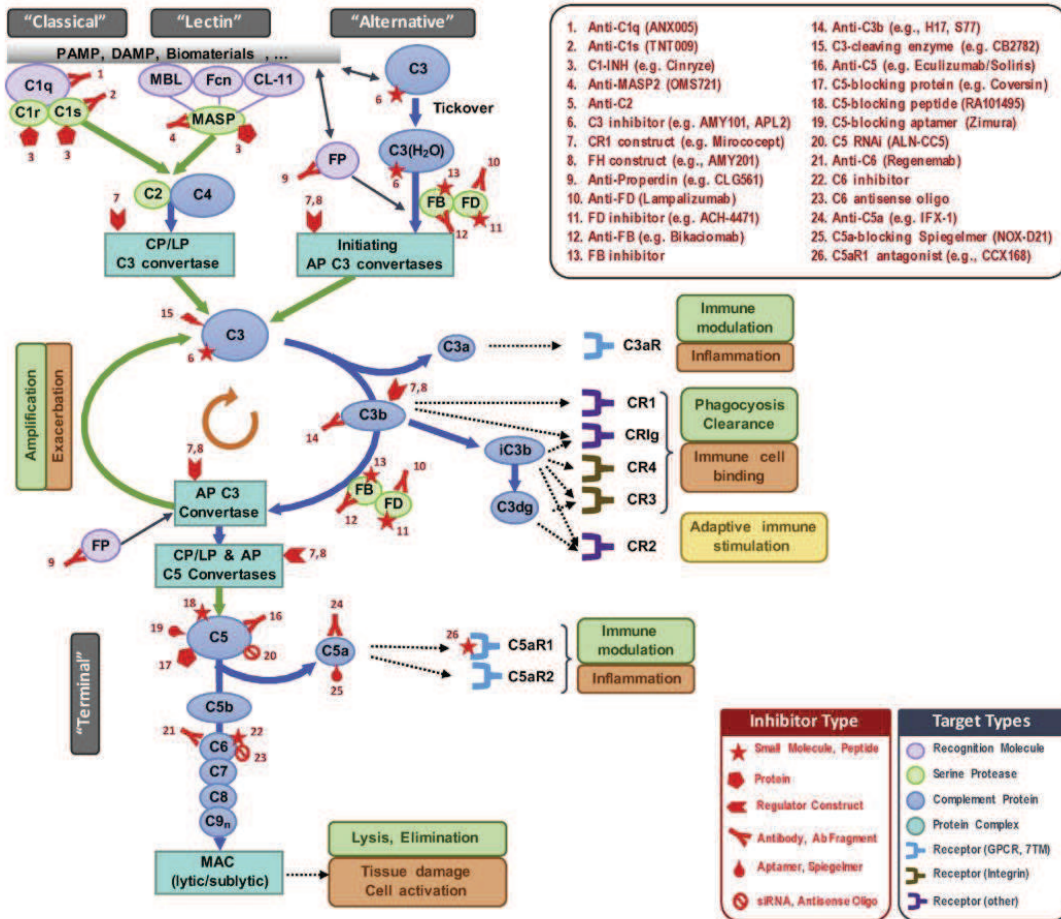
Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Het succes van niertransplantatie op korte termijn is groot, maar veel donornieren gaan op lange termijn verloren. De kwaliteit van de nier vóór transplantatie speelt hierbij een grote rol. Vooral bij transplantatie met postmortale nieren is de kwaliteit verlaagd. Een mindere kwaliteit van de nier versterkt de schade die ontstaat tijdens de periode dat de nier niet doorbloed is en als de bloedtoevoer weer hersteld wordt tijdens de transplantatie (ischemie/reperfusie schade). Deze schade leidt tot een groter risico op het langzaam op gang komen van de nier (delayed graft function), op acute en chronische afstoting [Walport MJ. N Engl J Med 2001;344(14):1058-66]. Ontregeling van het complement systeem speelt een centrale rol in het ontstaan van deze schade in de nier [redacted]

[redacted]
[redacted]
[redacted]
[redacted] De resultaten laten zien dat de functie en overleving van nier transplantaten verslechterd als gevolg van complement activatie. Deze bevindingen plaatsen de rol van remming van het complement systeem in een nieuw perspectief. Om de functie en overleving van niertransplantaten te verbeteren is het nodig om nieuwe aangrijpingspunten te identificeren voor interventie; tijdens en voor de transplantatie en in de donor, en/of de ontvanger. De behandeling van complement gerelateerde nierziekten berustte tot voor kort op zware afweer onderdrukkende medicatie, welke veel bijwerkingen gaven, waaronder systemische infecties. Proefdierstudies laten echter zien dat door gerichte interventie in het complement systeem deze bijwerkingen worden voorkomen. Daarnaast zijn deze gerichte interventies therapeutisch actief bij lage doseringen, wat ervoor zorgt dat een nieuwe groep aan geneesmiddelen in opkomst is. Dat deze proefdierstudies ook bruikbaar zijn in de kliniek blijkt uit het feit dat de eerste specifieke complement remmer inmiddels is geregistreerd onder de naam Eculizimab [Rother et al. Nature Biotechnology 2007;25:1256-64].

Het complement systeem is onderdeel van het aangeboren immuunsysteem, maar is ook betrokken bij de activatie van het verworven immuunsysteem. In totaal maken meer dan 30 eiwitten deel uit van het complement systeem. Activering van het complement systeem kan via drie routes: de klassieke route (door antistof complexen), de lectine route (door suikergroepen op ziekteverwekkers en beschadigde cellen van het eigen lichaam) en de alternatieve route (o.a. door oppervlaktemoleculen van bacteriën en apoptotische cellen). Alle drie de routes leiden tot de activatie van complement component 3 (C3). Na C3-activering kan de terminale route worden geactiveerd door de sequentiële activering van de componenten C5 tot C9. Samen vormen deze componenten een complex, het 'membrane attack complex', dat een porie vormt in de celwand, zodat deze lyseert [Ricklin et al. Nat Immunol 2010;11(9):785-797, Walport MJ. N Engl J Med 2001;344(14):1058-66]. Gezien de efficiëntie van het complement systeem is een strikte controle nodig om schade aan eigen weefsel en de eigen cellen te voorkomen. Op verschillende niveaus van het activatieproces vindt daarom regulatie plaats. Er zijn twee type regulatoren te onderscheiden: eiwitten in het plasma en eiwitten op het membraan van gastheercellen [Carroll et al. Adv Drug Del Rev 2011;63:965-75]. Samen zorgen deze complement regulerende eiwitten ervoor dat het complement systeem in evenwicht blijft. Dit evenwicht zorgt er enerzijds voor dat er (a) continu mogelijkheid is tot complement activatie en (b) anderzijds dat de complement activering een gecontroleerde reactie blijft [Zhang et al. J Clin Invest 1999;103(1):55-61]. Een ongecontroleerde activatie van het complement systeem, zowel up- als downregulatie, kan leiden tot destructie van circulerende bloedcellen of parenchymcellen en daarmee zorgen tot schade.



Figuur: Complement systeem – overzicht van alle complement componenten in zowel de drie activatieroutes van het complement systeem, als in de terminale pathway.

Deze recente bevindingen ondersteunen het idee dat met het gebruik van nieuwe interventiemethoden de bij niertransplantatie ontstane schade aan het transplantaat kan worden verminderd. Voor optimale toepassing van deze methoden is echter een beter begrip van de onderliggende mechanismen nodig en een volledige set van experimenten die de betrokken complement factoren en effecten van de middelen bepalen. Op deze manier kan de het succes van niertransplantatie de komende jaren sterk verbeteren.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

De hypothese luidt dat de activering van het complement systeem in de verschillende fasen van niertransplantatie: (1) in de donor, (2) tijdens preservatie, (3) tijdens transplantatie en (4) in de ontvanger resulteert in een verminderde transplantaatfunctie. Kortom: complement activatie vindt plaats van donor naar ontvanger. Hoewel onderzoek heeft aangetoond dat het complement systeem wordt op gereguleerd in al deze fasen, is het niet volledig opgehelderd wat het pathofysiologisch mechanisme hiervan is. Dit maakt het doel van onze studies tweeledig: (1) het onderzoeken van de pathofysiologische processen die ervoor zorgen dat het complement systeem tijdens al deze fasen van transplantatie wordt geactiveerd. (2) Het onderzoeken van verschillende interventiemethoden in het complement systeem om ervoor te zorgen dat nierschade tijdens niertransplantatie verminderd.

Hierdoor hebben wij de volgende onderzoeksvragen:

Hoofdvraag: Welke rol speelt het complement systeem bij de nierschade die ontstaat rondom niertransplantatie?

Deelvragen:

- Welk pathofysiologisch mechanisme speelt het complement systeem in niertransplantatie? (=mechanistisch)
- Welke interventies in het complement systeem leiden tot een vermindering van nierschade tijdens niertransplantatie? (=functioneel)

Haalbaarheid:

Om onze onderzoeksvragen te kunnen beantwoorden maken we gebruik van verschillende (dier)modellen, die elk een stap tussen de donor naar ontvanger vormen, namelijk:

1. Hersendoodinductie: We hebben uitgebreide expertise in het induceren van hersendood. Dit is geoptimaliseerd op ons eigen lab (de biotechnici) in samenwerking met het microchirurgisch team van de CDP.

2. Preservatie: Op het gebied van preservatie heeft onze onderzoeksgroep uitgebreide expertise. Verschillende organen uit verschillende species kunnen op ons lab worden geperfundeerd. Hierbij zullen we ons vooral richten op het perfusiemodel en minder op de cold storage van nieren.

3. Ischemie/Reperfusie schade: Met het ischemie/reperfusie model hebben onze biotechnici uitgebreide ervaring in samenwerking met het microchirurgisch team van de CDP.

4. Transplantatie: Op het gebied van niertransplantatie werken we samen met het microchirurgisch team van de CDP. Het microchirurgisch team kan ons bijstaan in het uitvoeren van dit model.

Al het benodigde apparaat is aanwezig op al dan niet ons lab of de CDP. Daarnaast hebben we een breed scala aan immunohistochemische en moleculaire technieken tot onze beschikking om complement componenten tot in detail te kunnen onderzoeken.

3.3 Belang

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

Niertransplantatie is de eerste keus behandeling voor patiënten met eindstadium nierfalen. Echter sterven er nog steeds patiënten die op de wachtlijst staan door het tekort aan orgaandonoren. De lange termijn overleving van donornieren is afhankelijk van verschillende factoren zoals:

- 1. De donor: levende versus postmortale donatie
 - 2. Preservatie: cold storage versus perfusie
 - 3. Transplantatie: warme en koude ischemietijden
 - 4. De ontvanger: wel of geen rejectie
- } Kortom: van donor naar ontvanger.

Remming van het complement systeem zal dan ook leiden tot een verbeterde transplantaatfunctie en overleving. Een groot probleem in het interveniëren in het complement systeem door middel van de 'oude' geneesmiddelen ten opzichte van onze huidige ideeën is significante remming van het systemisch circulerende complement. Omdat het complement systeem een onderdeel is van het aangeboren immuunsysteem speelt het complement systeem een belangrijke rol bij het voorkomen van infecties en ontstekingen in het lichaam. Het systemische remmen van het complement systeem, zoals de 'oude' geneesmiddelen doen, heeft dan ook als gevaar het risico op het ontstaan van infecties. Een intact complement systeem is een voorwaarde voor een immuun competente toestand.

Wetenschappelijk belang onderliggend project:

Dit huidige projectvoorstel is belangrijk omdat het ons inzichten gaat geven over het effect van:

1. Welke specifieke complement componenten betrokken zijn bij het ontstaan van nierschade in de verschillende fasen van transplantatie. Tot op heden is niet bekend hoe het complement systeem wordt geactiveerd in deze verschillende fasen en welke specifieke routes van het complement systeem hierbij een rol spelen. Dit is een belangrijk onderdeel van onze huidige project aanvraag.(=mechanistisch niveau)
2. De nieuwe inzichten in de pathofysiologische rol van het complement systeem zullen er toe leiden dat het complement systeem op een specifiekere en selectievere manier kan worden geremd. Er zijn reeds complement remmers op de markt die het complement systeem specifiek en selectief kunnen remmen, echter zijn deze nog niet voor transplantatie doeleinden gebruikt of in een transplantatiemodel getest. Hier ligt dus een 'window op oppurtunity' gezien het specifiekere en selectievere remmen van het complement systeem een paar voordelen met zich mee brengt: (a) het complement systeem behoudt zijn natuurlijke functie waardoor het risico op systemische bijwerkingen zoals infectieziekten kleiner is. (b) Het specifiekere en selectievere remmen zorgt ervoor dat er lagere therapeutische doseringen kunnen worden gebruikt, waardoor minder bijwerkingen zullen optreden.(=functioneel niveau)
3. De meest efficiënte en veilige manier van interventie zal worden verduidelijkt. Zoals in de figuur aangegeven zijn er meerder manieren van interventie om een complement component specifiek en selectief te kunnen remmen. Echter is het niet bekend of dit effectiever en tevens veiliger is met bijvoorbeeld een anti-sense DNA molecuul of door middel van een antilichaam. Ook hier gaat de huidige projectaanvraag op in. Deze vraagstelling gaat daarmee hand in hand met punt 2. (=functioneel niveau)

Echter is er meer onderzoek nodig om deze hypothese verder uit te werken, te valideren en om de data te kunnen extrapoleren naar de humane situatie. Daarnaast bestaat het complement systeem uit meer dan 30 eiwitten en zal onderzoek moeten worden gedaan op welk niveau het beste kan worden geremd, dat kan op het niveau van: de drie activatieroutes, centrale component C3 of in de terminale route. Met behulp van deze project aanvraag zullen we deze vragen kunnen beantwoorden.

Maatschappelijk belang onderliggende project

Het complement onderzoek is van belang omdat niertransplantatie de gouden standaard is voor patiënten met eindstadium nierfalen, maar er nog steeds een tekort is aan donornieren. De oplossingen hiervoor zijn ten eerste het verminderen van de vraag: minder mensen op de wachtlijst. Ten tweede, meer aanbod creëren. Het huidige onderzoek draagt bij aan het mogelijk maken van beide oplossingen. De groep die op een donornier wacht wordt gevormd door twee type patiënten. (a) Patiënten die eind stadium nierfalen hebben en wachten op een donornier en (b) patiënten die disfunctie of afstoting van een donornier hebben en daardoor re-transplantatie moeten ondergaan. Ons onderzoek gaat vooral in op patiënten die voor re-transplantatie gaan. De overleving van het transplantaat wordt namelijk beïnvloed door factoren zoals donortype, type preservatie, ischemie/reperfusie tijden en de kans op disfunctie of zelf afstoting van de nier. Om deze schade te verminderen of zelfs te voorkomen zijn nieuwe therapieën nodig, waardoor de overleving van een donornier wordt verlengd. Daarnaast kan complement therapie de donorpool potentieel vergroten door postmortale donoren of donornieren tijdens preservatie te behandelen. Er vindt dan als het waren resuscitatie en revitalisatie van de donornier plaats, waardoor de donornier potentieel wel zou kunnen voldoen aan de donatiecriteria. Het complement systeem heeft hier de potentie voor. Ten eerste omdat het betrokken is in al deze fasen van niertransplantatie en ten tweede omdat momenteel al complement remmers worden gebruikt in de kliniek. Echter hebben deze andere indicaties dan niertransplantatie, namelijk nierziekten als atypische hemolytisch uremisch syndroom (aHUS). Het gebruik van complement remmers in de kliniek toont echter aan dat specifieke en selectieve remming van het complement systeem in patiënten mogelijk, effectief en veilig is. Om deze therapieën voor niertransplantatie (donoren en/of ontvangers) mogelijk te maken is er echter eerst validatie van de werking van complement systeem en de effectiviteit van therapieën in dieren nodig. Dit onderzoek zal bijdragen aan de kennis van het complement systeem in niertransplantatie en leiden tot een nieuwe complement therapieën die zorgen voor een verbetering van nier functie en overleving na niertransplantatie.

3.4 Onderzoeksstrategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

Het doel van ons onderzoek is tweeledig: (1) het onderzoeken van de pathofysiologische processen die ervoor zorgen dat het complement systeem tijdens al deze fasen van transplantatie wordt geactiveerd (=mechanistisch). (2) Het onderzoeken van verschillende interventiemethoden in het complement systeem om ervoor te zorgen dat nierschade tijdens niertransplantatie verminderd (=functioneel).

Mechanistisch

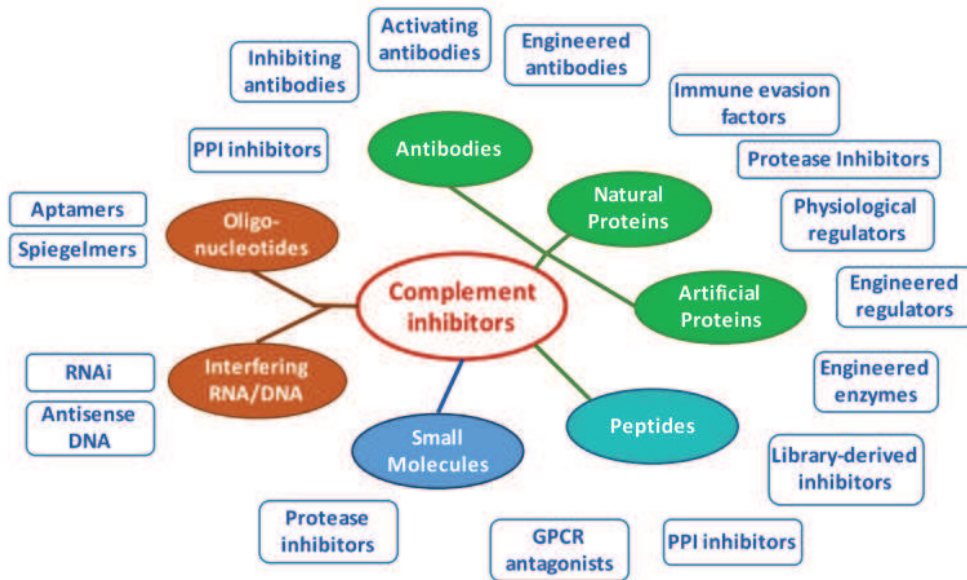
Om deelvraag (1) te kunnen beantwoorden zullen we kijken naar mechanismen van complement activatie. Om de mechanismen van complement activatie te onderzoeken maken we gebruik van KO-lijnen. Deze KO-lijnen worden gebruikt om te onderzoeken of het eiwit dat zij missen een rol speelt bij de activatie van het complement systeem. Secundair hieraan weten we aan de hand van dit onderzoek direct of deze eiwitten wel of niet een potentiële target bij interventie zijn. Momenteel heeft onze onderzoeksgroep 5 KO-lijnen beschikbaar in de CDP. Deze KO-lijnen representeren allen een ander onderdeel van het complement systeem.



Mochten een van de bovenstaande KO-lijnen niet worden gebruikt, dan zullen deze dieren ook niet worden gebruikt. Voor het gebruik van de KO-lijnen moet in vitro /in vivo data beschikbaar zijn over de potentie van deze lijnen.

Functioneel

Om deelvraag (2) te kunnen beantwoorden gaan we functioneel kijken naar de rol van het complement systeem. Hierbij zullen we op verschillende manieren in het complement systeem interveniëren. Onderstaand figuur geeft de mogelijke manieren van interventie in het complement systeem weer.



Figuur: overzicht van alle mogelijke middelen die specifiek in het complement systeem aangrijpen

De middelen die zullen worden gebruikt voor het interveniëren in het complement systeem moeten aan een aantal criteria voldoen:

- a. De middelen moeten specifiek aangrijpen op het complement systeem;
- b. De middelen moeten deels in vitro/in vivo zijn getest. Hieruit moet zijn gebleken dat deze middelen potentie hebben om het complement specifiek en effectief te kunnen remmen.

[Redacted text block]

Bovenstaand zijn de mogelijke interventies, wanneer een van deze interventies niet wordt toegepast, zullen de hiervoor aangevraagde dieren niet worden gebruikt.

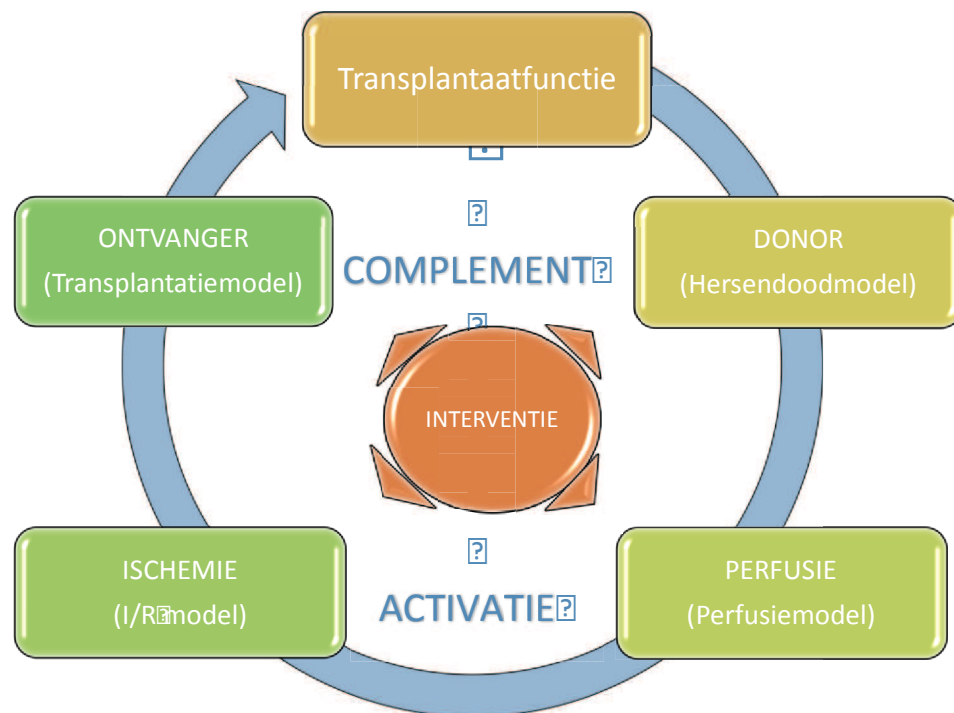
Zowel mechanistisch als functioneel willen we onderzoek doen in verschillende modellen. Elk van deze modellen simuleren een onderdeel van het transplantatieproces waarin het complement systeem wordt geactiveerd.

De modellen waarin mechanistisch en functioneel wordt gekeken zijn:

- Hersendoodinductie model – Bijlage 1
- Perfusiemodel – Bijlage 2
- Ischemie/Reperfusie model – Bijlage 3
- Transplantatiemodel – Bijlage 4

3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

De modellen die worden gebruikt in ons project zullen niet altijd in onderstaande volgorde worden uitgevoerd. De reden hiervoor is dat in sommige modellen al een aantal mechanische en functionele onderzoeken zijn gedaan. Zo is er anno 2017 veel meer bekend over de rol van het complement systeem in ischemie/reperfusie dan in bijvoorbeeld hersendood. Met beide argumenten houden we rekening in de uitvoering van onze experimenten. De belangrijkste uitkomstparameter voor alle modellen is nierschade, gemeten aan de hand van inflammatiemarkers en nierfunctie.



Figuur: Van donor naar ontvanger vinden er tijdens transplantatie een aantal processen plaats die ieder op zichzelf staand (maar ook cumulatief) van invloed zijn op de transplantaatfunctie. Onze onderzoeksgroep heeft aangetoond dat het complement systeem tijdens al deze bovengenoemde stappen wordt geactiveerd. Zo zien we in de donor dat een hersendode donor significant meer complement depositie in de nier heeft vergeleken met een levende of hartsdode donor. Daarnaast zijn er verschillende perfusiemodellen welke allen in andere mate het complement systeem activeren. Zoals eerder onderzoek heeft laten zien wordt er tijdens ischemie/reperfusie ook complement geactiveerd doordat de epitheelcellen in de nier als gevolg van ischemie/reperfusie meer gevoelig worden voor complement activatie. Daarnaast zorgt complement activatie in de donor na transplantatie voor het aantrekken van afweercellen in de ontvanger. Kortom van donor tot ontvanger, in elke stap wordt het complement systeem geactiveerd met als gevolg een verminderde transplantaatfunctie. Onze diermodellen representeren en modelleren de stappen van donor en ontvanger en zijn daarom geschikte modellen om de mechanistische en functionele rol van het complement systeem te onderzoeken.

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

Fasering:

❖ **Alle modellen**

Voor nieuwe middelen zal, voor zover noodzakelijk, eerst bekend moeten zijn wat het te verwachten effect is en de daarmee gepaard gaande bijwerkingen. Eventueel zal dit met in vitro werk worden gedaan of worden gebaseerd op eerdere literatuur. In de volgende fase zullen de nieuwe middelen worden toegepast in de eerder genoemde in vivo modellen.

❖ Transplantatiemodel

Voor het transplantatie model (bijlage 4) geldt dat het mechanistische/functionele experiment eerst moet zijn uitgevoerd in een ander model (beschreven in bijlage 1, 2 en 3) eventueel op basis van valide literatuurreferenties. Het tweede keuze moment (NO GO) zal zijn dat de methoden niet worden toegepast op het transplantatiemodel als uit een eerder model negatieve resultaten zijn verkregen.

Mijlpalen - Algemene GO/NO GO momenten:

GO/NO GO 1 - werkzaamheid middel: Door middel van pilot experimenten zal zo nodig worden onderzocht wat de juiste dosering van de nieuwe middelen moet zijn en/of de interventie strategie werkzaam is. Dit kan betekenen dat een middel ook eerst getest kan worden zonder de toepassing van een model. Dit om te kijken of het middel in vivo dezelfde uitkomsten geeft dan in vitro. Als zonder het toepasbare model blijkt dat het middel al niet werkzaam is, zal dit middel niet worden gebruikt in een model.

GO/NO GO 2 – ongerief dieren: Daarnaast zal in het pilot experiment worden gekeken hoe het ongerief van de dieren kan worden gereduceerd. Het keuze moment bij elk experiment is de uitkomst van het al dan niet uitgevoerde pilot experiment. Als uit het pilot experiment blijkt dat het ongerief van de dieren proportioneel hoog is of de dosis van de nieuwe middelen onverantwoord zijn, zal dit middel niet worden gebruikt. Dit zelfde geldt voor de KO-lijnen.

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

Volgnummer	Type dierproef
1	Hersendoodinductiemodel
2	Preservatietechnieken
3	Ischemie/Reperfusiemodel
4	Transplantatiemodel
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|-------------------------|
| 3.4.4.1. | Hersendoodinductiemodel |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Hoewel het aantal donornieren gedoneerd door levende en harddode donoren toeneemt, wordt echter nog een substantieel deel van de donornieren verkregen via hersendode donoren. Donornieren van hersendode donoren geven inferieure resultaten in vergelijking met donatie bij leven of na hartdood [Terasaki et al. N Engl J Med 1995;10;333(6):333-336]. Een van de factoren die hiervoor predisponeert is de activatie van het complement systeem in hersendood. Geactiveerde complement componenten zorgen voor het ontstaan van een ontstekingsreactie in de nier. Deze hersendood geïnduceerde renale inflammatie zorgt voor schade van het transplantaat, met verslechtering van de nierfunctie als gevolg

Keuze hersendoodinductiemodel:

Het hersendoodinductie model maakt het mogelijk zowel de mechanistische als functionele rol van het complement systeem te bestuderen. Het Ons model simuleert de humane hersendood situatie in die zin dat er een vergelijkbare mate van schade en daarmee inflammatie wordt veroorzaakt na hersendoodinductie als humaan gezien. Dit zorgt ervoor dat ons model een optimale face validity heeft.

Uitkomstparameters:

De uitkomstparameters in het hersendoodinductie model zijn de nierfunctie en mate van nierschade. Wij hebben voor deze uitkomstparameters gekozen omdat deze parameters in de humane situatie ook als maatstaf voor nierfunctie worden gebruikt. Daarnaast is in eerder onderzoek aangetoond dat de interleukine-6 expressie de meest uitgesproken inflammatoire marker in hersendood is, welke 60-100 maal is verhoogd in hersendode diermodellen

De nierfunctie zal worden gemeten aan de hand van de hoeveelheid creatinine en ureum in het plasma. De mate van nierschade wordt bepaald aan de hand van de mate van inflammatie, waarbij interleukine expressies worden bepaald.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Opzet:

Bij adequaat geanesthezeerde dieren zal hersendoodinductie plaatsvinden. Hersendood zal worden geïnduceerd door een ballonkatheter in de extradurale ruimte te plaatsen en op te blazen. De manier waarop hersendood wordt geïnduceerd zorgt ervoor dat dezelfde mate van inflammatie wordt bereikt als bij de humane hersendode donoren. Hersendood wordt vastgesteld middels de afwezigheid van een adem prikkel en het verloop van de bloeddruk. Na hersendood zal de anesthesie stoppen en zullen de dieren worden geventileerd. De dieren worden tot maximaal 4 uur na hersendoodinductie gemonitord om vitale functies te meten. Hierna zullen de dieren worden getermineerd. Bloed, urine en organen worden verzameld en opgeslagen.

Experiment (fases)	Hersendoodinductie	Monitoring	Terminatie + opslag
Tijdsbeloop (min)	T0-T30	T30-T270	T270

Niet aangegeven in tabel: Wanneer nieuwe middelen worden getest zal dit zowel voor als na de hersendoodinductie kunnen worden gedaan.

De reden dat nieuwe middelen voor hersendoodinductie worden toegediend is gebaseerd op het principe van 'proof of principle', zodat we er zeker van zijn dat het middel op de juiste plek komt, in de juiste tijdspanne. Dit omdat in de humane situatie de hersendode donor vaak 12-16 uur hersendood is voor donatie. Hierdoor is er genoeg tijd om in deze tijdspanne een medicijn toe te dienen welke op de juiste plaats komt. In ons model werken we echter met modellen waarin maximaal 4 uur hersendood plaatsvindt, waardoor het medicijn wellicht niet genoeg tijd heeft op de juiste plaats in het lichaam te komen. Hierdoor dienen we als 'proof of principle' het medicijn voor hersendood toe, gebaseerd op de halfwaardetijd van het middel. Tijdstip van toediening is daarom afhankelijk van de halfwaardetijd van het medicijn. Toedieningsweg wordt eveneens bepaald door type medicijn. Dit kan oraal, intraveneus, intramusculair, subcutaan of intra peritoneaal zijn.

Hersendood: rat versus muis

De hersendoodinductie in ratten en muizen is overeenkomstig. De manier waarop hersendood wordt geïnduceerd is hetzelfde in beide species. Het enige verschil is dat het hersendoodmodel in de rat 4 uur duurt en in de muis 3 uur. De reden voor dit verschil is dat muizen een sneller metabolisme hebben en het effect van 3 uur hersendood daarmee overeenkomstig is met het 4 uur durende hersendoodmodel in de muis

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Op basis van eerdere experimenten kunnen we voor de meeste primaire uitkomstmaten een te verwachten effectgrootte voorspellen. Door middel van powercalculaties wordt daarmee het aantal dieren beperkt. Daarnaast zal door middel van standaardisatie de variatie worden beperkt en daarmee het aantal benodigde dieren tot een minimum worden beperkt.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoorten: Muizen en ratten. Zowel wildtypes als genetisch gemodificeerde dieren. Muizen worden gebruikt omdat genetische modificatie veelgebruikt en makkelijker te bewerkstelligen is in muizen, zoals KO modellen. Beide, zowel muizen en ratten, worden gebruikt voor de overige medicatie types beschreven in de bijlage 'Het Projectvoorstel'. Voor de hersendoodinductie experimenten zullen zowel mannelijke als vrouwelijke dieren in gelijke mate worden gebruikt.

Herkomst: Aankoop van commerciële, erkende leveranciers of andere instellingen. Via samenwerkingsverbanden of eigen fok. Momenteel hebben we 5 genetisch gemodificeerde foklijnen in de CDP in Groningen, benoemd in 'Het Projectvoorstel'. De herkomst van de dieren zal afhangen van de onderzoeksvraag.

Levensstadia: Volwassen dieren (ook de grootste humane groep).

Geschatte aantallen: Het hersendoodmodel zal gebruikt worden voor zowel mechanistische als functionele vraagstellingen. Op basis van poweranalyse zullen per groep 10 dieren worden aangevraagd, waarbij er maximaal 4 groepen in een experiment zitten. De inclusie van 8 dieren per groep is met een power van 80%

en een standaarddeviatie van 10% voldoende [Alpha 0.05]. Echter houden wij rekening met een additionele uitval van maximaal 20% per groep, wat neer komt op 2 extra dieren per groep en daarmee dus 10 dieren per groep.

Uitval:

De uitval van maximaal 20% is gebaseerd op onze eerdere ervaringen met het hersendoodinductie model, waarbij uitval werd veroorzaakt door bijvoorbeeld overbelasting van het hart. Overbelasting van het hart wordt veroorzaakt doordat de dieren tijdens de 3-4 uur hersendoodperiode hemodynamisch stabiel worden gehouden met volume expanders in combinatie met vasoconstrictoren. Hierbij zien we soms dat de dieren vroegtijdig overlijden. Onze gegevens laten zien dat dit niet het gevolg is van overvulling of dat er een samenhang is met de hoeveelheid plasma expander die wordt toegediend, dit is dus het gevolg van individuele gevoeligheid voor de verschillende pathofysiologische processen geïnduceerd door hersendood. De procedure kent een maximale hoeveelheid plasma expander en vasoconstrictoren welke mogen worden toegediend.

Daarnaast vragen wij nog pilotdieren aan. Met de pilot kan de toedieningsweg, tijd van toediening en dosering van de medicatie worden getest. Dit al dan niet in combinatie met de hersendoodinductie (afhankelijk van de vraagstelling). Per experimentele groep vragen wij n=4 aan. Wanneer een pilot niet nodig is, zullen de pilotdieren niet worden gebruikt.

Opzet experiment:

Diersoort	[A] pilotdieren	[B] max aantal groepen per pilot	[C] Aantal dieren per groep + uitval	[D] Max aantal groepen per experiment	[E] Aantal experimenten per jaar	[F] Totaal per jaar = [A]x[B]x[E] + [C]x[D]x[E]	Totaal 5 jaar = [F] x 5
Muizen	4	4	10	4	1	56 +	280 +
Ratten	4	4	10	4	2	96 +	480 +
Totaal						152 =	760 =

Per jaar worden gemiddeld 3 hersendoodexperimenten in ratten en muizen uitgevoerd. Dit brengt het totaal op **152** dieren per jaar. Voor 5 jaar zijn dit **760** dieren.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: Tot op heden is er geen goede vervanging van het hersendoodinductiemodel door middel van in vitro experimenten. Hedendaags is er wel een brain slice model, waarbij gekeken kan worden naar het effect op hersencellen zelf. Echter is onze primaire uitkomstmaat nierfunctie en nierschade. Om dit te onderzoeken is het noodzakelijk een proefdiermodel te gebruiken. Door middel van in vitro experimenten wordt voorwerk verricht over de te verwachten effecten van de nieuwe middelen/strategieën.

Vermindering: Wij reduceren het aantal dieren door vooraf uitgevoerde powercalculaties. Meer dieren zullen tijdens het experiment niet worden gebruikt. Daarnaast zullen onze biotechnici de omstandigheden tijdens de proef optimaal houden, waardoor variatie wordt gereduceerd en daarmee het aantal benodigde dieren. Hoewel het effect van complementinterventie na hersendood op nierfunctie onze primaire uitkomstmaat is in dit model, zullen ook andere organen worden uitgenomen. Hierdoor zullen in de toekomst secundaire uitkomstmaten kunnen worden geanalyseerd, zonder dat er nieuwe experimenten moeten worden uitgevoerd.

Verfijning: Tijdens het hersendoodinductiemodel wordt gezorgd voor adequate algehele anesthesie. Tijdens de anesthesie zal door middel van adequate controle en monitoring van de dieren worden getracht het vooraf vastgestelde ongerief niet te overschrijden.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

De hersendoodinductie zal plaatsvinden onder adequate algehele anesthesie. Tijdens het boren van een gat in de schedel zal lokaal lidocaïne worden gegeven. Door middel van adequate controle en monitoring van de dieren zal het vooraf vastgestelde ongerief niet worden overschreden.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Het hersendoodinductie model is een specifiek model ontwikkelt en operationeel gemaakt door onze eigen biotechnici. Over de wereld zijn maar een paar onderzoeksgroepen die dit hersendoodinductie model gebruiken. De toepassing van interventies specifiek gericht op het complement systeem op dit hersendoodinductie model is dan ook uniek in de wereld en wordt alleen toegepast door onze eigen onderzoeksgroep.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Hersendood wordt onder algehele anesthesie geïnduceerd. Daarnaast zal lokaal lidocaïne worden toegediend ter preventie van pijn tijdens het boren van een opening in de schedel.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Geen

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Niet van toepassing

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Niet van toepassing

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

- Overbelasting van het hart (kan complicatie van hersendood zijn, in dergelijke gevallen wordt de proef gestopt)
- Gewichtsverlies van meer dan 15%
- Inactiviteit van het dier
- Conditie van de vacht
- Ontstekingsverschijnselen
- Bijwerkingen injecties

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Dit hangt onder andere af van het gebruik van wildtype dieren of genetisch gemodificeerde dieren. Op basis van eerder uitgevoerde experimenten met dit hersendoodinductie model wordt het percentage geschat op 10-20% uitval. De verwachte ongerief op basis van de injecties is 'licht' en kwantitatief zeer laag (<2%). Dit is op basis van onze eerdere ervaringen met het geven van dergelijke injecties voor/na hersendood.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Injecties: Licht

Hersendoodinductie: Terminaal

Totaal: Licht

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Uitname van organen is noodzakelijk voor het bereiken van de primaire eindpunten.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|-----------------------|
| 3.4.4.2 | Preservatietechnieken |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

De kwaliteit en levensduur van het transplantaat lijken voor een belangrijk deel bepaald te worden door de omstandigheden waarin de organen worden gepreserveerd. Tot voor kort werden donornieren gespoeld met een koude, zuurstofloze vloeistof. Vervolgens werden ze verpakt en op ijs gezet en zo snel mogelijk naar het ziekenhuis van de ontvanger gebracht. De koeling op ijs zorgt ervoor dat het metabolisme van het orgaan bijna volledig stil komt te liggen. Dat beperkt de schade aan het orgaan. Ondanks dat deze methode 30 jaar is gebruikt, is de methode zelf vrij grof. Goede organen die overleven dit proces, die kunnen tegen een stootje. Maar organen die enigszins beschadigd uit de donor komen, kunnen veel minder hebben, wat gevolgen kan hebben voor de transplantaatfunctie. Een nieuwe techniek is de machinale preservatie, ook wel perfusie genoemd. Hierbij worden de organen gespoeld met zuurstofrijke vloeistof en blijven die tijdens de bewaring continu rondpompen. Het orgaan wordt daarbij niet altijd meer gekoeld. Deze methode houdt de kwaliteit van organen als de nier beter in stand. Vandaar dat onderzoek naar het effect van perfusiemethoden en het ontwikkelen van nieuwe perfusiemethoden belangrijk is.

Keuze perfusiemodel:

We hebben gekozen voor het perfusiemodel omdat deze techniek relatief nieuw en veelbelovend is. Op ons lab zijn de perfusiemodellen geoptimaliseerd voor meerdere organen. Het model van deze pompen is gebaseerd op de humane situatie, waardoor de resultaten goed zijn te vergelijken met de humane perfusiemodellen. Momenteel hebben we voor meerdere organen een perfusiemodel: long, lever en nieren.

Primaire uitkomstparameters:

De uitkomstparameters zijn de nierfunctie en mate van nierschade. Wij hebben voor deze

uitkomstparameters gekozen omdat deze parameters in de humane situatie ook als maatstaaf voor nierfunctie worden gebruikt. De nierfunctie zal worden gemeten aan de hand van de hoeveelheid creatinine en ureum in het urine. De mate van nierschade wordt bepaald aan de hand van de mate van inflammatie, waarbij interleukine expressies worden bepaald. Omdat onze primaire uitkomstparameters in urine worden bepaald zal urineproductie ten tijde van machineperfusie noodzakelijk zijn.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Opzet:

Onder algehele anesthesie vindt dubbelzijdige nefrectomie plaats. Hierbij wordt de ureter vrij geprepareerd en gecanuleerd. Vervolgens wordt de aorta caudaal van de arteria renalis vrij geprepareerd en gecanuleerd. De arteria renalis en de vena renalis worden vervolgens eveneens gecanuleerd. Hierna vindt de nefrectomie plaats en wordt het dier getermineerd. Bloed, urine en organen worden verzameld en opgeslagen.

Door middel van de canules wordt de nier aangesloten op de perfusiemachine. Hier wordt afhankelijk van de vraagstelling druk- of volume gereguleerd vloeistof door de nier gepompt. De vloeistofsamenstelling is afhankelijk van de vraagstelling en gestandaardiseerd in een vooraf uitgevoerd pilot experiment. Tijdens het gehele experiment, zowel pilot als interventie, wordt de geproduceerde urine opgevangen.

Afhankelijk van de vraagstelling zal al dan niet een medicijn worden toegevoegd aan de perfusievloeistof. Tijdstmoment is afhankelijk van de vraagstelling. Een pilotexperiment zal vooraf worden uitgevoerd om te bepalen wat de optimale dosering, toedieningstijd en werkzaamheid van het medicament in de perfusievloeistof is. Daarnaast is het wellicht nodig om de condities van de perfusiemachine te bepalen, hierbij moet worden gedacht aan het bepalen van de juist druk waarmee de vloeistof wordt rond gepompt of de hoeveelheid zuurstof in de perfusievloeistof. Dit zal niet voor elk experiment nodig zijn, maar afhankelijk zijn van de vraagstelling. In de pilot zullen dan minimaal 1 parameter en maximaal 3 parameters worden getest (zoals medicatieparameters, druk, zuurstofconcentratie, temperatuur, volume en priming (=additieven) van de vloeistof). In het daadwerkelijke interventie experiment zullen we vervolgens perfusie met interventie en perfusie zonder interventie (en eventueel cold storage) met elkaar vergelijken. Kortom, maximaal 3 preservatie condities.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Op basis van eerdere experimenten kunnen we voor de meeste primaire uitkomstmaten een te verwachten effectgrootte voorspellen. Door middel van powercalculaties wordt daarmee het aantal dieren beperkt. Daarnaast zullen interindividuele verschillen tussen de dieren zo klein mogelijk worden gehouden om variatie tussen de dieren te beperken en daarmee het benodigde aantal dieren zo klein mogelijk te houden.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoorten: Ratten. Zowel wildtypes als genetisch gemodificeerde dieren. De perfusiemodellen zijn alleen geoptimaliseerd en ontworpen voor ratten. De reden hiervoor is, is dat de nieren van muizen te klein zijn om te canuleren en aan te sluiten op de perfusiemachines. Voor de experimenten zullen zowel mannelijke als vrouwelijke dieren in gelijke mate worden gebruikt.

Herkomst: Aankoop van commerciële, erkende leveranciers of andere instellingen. Via samenwerkingsverbanden of eigen fok. De herkomst van de dieren zal afhangen van de onderzoeksvraag.

Levensstadia: Volwassen dieren.

Geschatte aantallen: Het preservatiemodel zal worden gebruikt om zowel mechanistische als functionele vraagstellingen te beantwoorden. Op basis van poweranalyse zullen per groep 10 dieren worden aangevraagd. De inclusie van 8 dieren per groep is met een power van 80% en een standaarddeviatie van 10% voldoende [Alpha 0.05]. Echter houden wij rekening met een additionele uitval van maximaal 20% per groep, wat neer komt op 2 extra dieren per groep en daarmee dus 10 dieren per groep. Deze uitval van maximaal 20% is gebaseerd op onze eerdere ervaringen met het perfusie model, waarbij uitval werd veroorzaakt door bijvoorbeeld een afwijkende anatomie of het niet produceren van urine door de nier tijdens perfusie (urine is een belangrijkste uitkomstparameter).

Opzet experiment:

PILOT EXPERIMENT:

Groep 1: Parameter 1 (n=3)

Groep 2: Parameter 2 (n=3)

Groep 3: Parameter 3 (n=3)

Totaal per pilot experiment: **9** dieren.

INTERVENTIE EXPERIMENT

Groep 1: Experimentele groep → Pomp met medicijn (n=10)

Groep 2: Experimentele groep → Pomp zonder medicijn (n=10)

Per experiment gemiddeld **20** dieren gebruikt.

Diersoort	[A] Dieren per groep in pilot	[B] Groepen in pilot	[C] Aantal dieren per exp groep + uitval	[D] Aantal groepen/ Exp	[E] Aantal Exp per jaar	[F] Totaal per jaar [A]x[B]x[E] + [C]x[D] x[E]	Totaal 5 jaar [F] x 5
Ratten	3	3	10	2	4	116	580

Per jaar worden gemiddeld 4 preservatie experimenten in ratten uitgevoerd. Dit brengt het totaal op **116** dieren per jaar. Voor 5 jaar zijn dit **580** dieren.

Er zijn minder pilot dieren nodig wanneer de opzet van het experiment, dus de perfusie, niet anders is dan bij een eerder experiment. Hierbij hebben we het over pompinstellingen en controleparameters. Hetzelfde geldt voor de controle groepen van de interventie experimenten.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: Momenteel is er geen goede andere mogelijkheid om de mogelijkheden van de perfusiemachines te testen dan door middel van proefdieren. Nieuwe ontwikkelingen laten steeds meer mogelijkheden voor artificiële modellen zien, echter staan deze technieken nog zodanig in de kinderschoenen dat we daarmee niet de totale mogelijkheden van de perfusiemachine mee kunnen testen.

Vermindering: Zo min mogelijk dieren worden gebruikt door middel van powercalculatie en door het meenemen van ervaringen uit eerdere experimenten. Uitval tijdens de nefrectomie is laag, bij afwijkende anatomie van een nier kan waar mogelijk de andere nier worden gebruikt.

Verfijning: Door algehele anesthesie tijdens de dubbelzijdige nefrectomie wordt gestreefd naar optimale pijnbestrijding.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Adequate algehele anesthesie.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Voor zover bekend uit de literatuur wordt dit model nog niet toegepast om te kijken naar de invloed van het complementsysteem op nierfunctie.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Geen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

n.v.t.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

n.v.t.

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geïndiceerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Nefrectomie: Terminaal

Totaal: Terminaal

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Uitname van organen is noodzakelijk voor het bereiken van de primaire eindpunten.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|---------------------------|
| 3.4.4.3 | Ischemie/Reperfusie model |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Elke niertransplantatie gaat gepaard met ischemie/reperfusie (I/R) schade. Door het toenemende tekort aan donoren worden steeds vaker organen van marginale donoren gebruikt voor transplantatie, waarbij ook sprake is van hogere ischemietijden [Mange et al. N ENgl J Med 2001;344:726-31]. I/R schade kan acute en chronische transplantaatdisfunctie veroorzaken en uiteindelijk leiden tot het falen van het niertransplantaat. Kortom er is een toenemende behoefte aan interventies gericht op het verminderen van I/R schade in de getransplanteerde nier. Een van de belangrijkste mechanismen die ten grondslag ligt aan het ontstaan van I/R schade is lokale inflammatie in het transplantaat. Eerder heeft onze onderzoeksgroep aangetoond dat het complementsysteem betrokken is bij het ontstaan van deze inflammatie [unpublished data].

Keuze ischemie/reperfusie model:

Door middel van het I/R model (eenzijdige reperfusie) zijn wij in staat om nieuwe manieren voor interventie tijdens de ischemie periode te testen. Ons model simuleert de humane I/R schade goed, waardoor er sprake is van een hoge face validity. De reden waarom we voor eenzijdige reperfusie hebben gekozen is omdat er meestal ook maar één transplantaat wordt terug getransplanteerd. Om te bepalen welke ischemietijd optimaal is zullen we vooraf een pilot experiment doen waarbij de beste ischemietijd wordt bepaald. Hierdoor kan met zekerheid worden vastgesteld of er voldoende mate van I/R schade optreedt in ons I/R model in relatie tot onze onderzoeksvraag.

Uitkomstparameters:

De uitkomstparameters in het I/R model zijn de nierfunctie en de mate van nierschade. Wij hebben deze uitkomstparameters gekozen omdat deze parameters in de humane situatie ook als maatstaaf voor nierfunctie worden gebruikt. Daarnaast zijn beide parameters valide te meten in dit I/R model. De nierfunctie zal worden gemeten aan de hand van de hoeveelheid creatinine en ureum in het plasma en

urine. De mate van nierschade wordt bepaald aan de hand van de mate van inflammatie, waarbij interleukine expressies worden bepaald.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Opzet:

Onder algehele anesthesie wordt middels mediane laparotomie het abdomen geopend. Vervolgens wordt renale ischemie geïnduceerd door het afklemmen van de renale arterie met twee klemmen. De duur van de ischemie is afhankelijk van de vraagstelling en kan zorgen voor het induceren van milde/matige/hoge nierschade. Na het verwijderen van de klemmen worden de nieren geïnspecteerd op het herstel van de reperfusie. Vervolgens wordt het abdomen gesloten. De dieren zullen afhankelijk van de vraagstelling 1-28 dagen postoperatief worden getermineerd. Bloed, urine en organen worden verzameld en opgeslagen.

Experiment* (fases)	Inductie ischemie	Perioden van monitoring	Terminatie + opslag
Tijdsbeloop (dagen)	T0	T1-28	T28

Niet aangegeven in tabel:

De duur zal minimaal 30 tot maximaal 45 minuten zijn, afhankelijk van de uitkomsten van onze pilot experimenten. In de pilotexperimenten zal de beste ischemietijd worden bepaald aan de hand van nierfunctie en nierschade, zoals bovengenoemd.

Wanneer nieuwe manieren worden getest zal dit zowel voor als na de operatie kunnen worden gedaan. Tijdstip van toediening is afhankelijk van de halfwaardetijd van het medicijn. Toedieningsweg wordt eveneens bepaald door type medicijn. Dit kan oraal, intraveneus, intramusculair, subcutaan of intra peritoneaal zijn.

*Voor zowel het pilot experiment als daadwerkelijke experiment gebruiken we in principe dezelfde proefopzet.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Op basis van eerdere experimenten kunnen we voor de meeste primaire uitkomstmaten een te verwachten effectgrootte voorspellen. Door middel van powercalculaties wordt daarmee het aantal dieren beperkt. Daarnaast zullen interindividuele verschillen tussen de dieren zo klein mogelijk worden gehouden om variatie tussen de dieren te beperken en daarmee het benodigde aantal dieren zo klein mogelijk te houden.

Daarnaast zullen we in het pilot experiment per keer één ischemietijd testen. Hierbij wordt op basis van de literatuur de meest gebruikte ischemietijd eerst getest. Mocht dit voldoende nierschade induceren zullen we de andere ischemietijd niet meer testen in het pilot experiment. Hiermee wordt het aantal dieren nodig voor het pilot experiment geminimaliseerd.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoorten: Muizen en ratten. Zowel wildtypes als genetisch gemodificeerde dieren. Muizen worden gebruikt omdat genetische modificatie veelgebruikt en makkelijker te bewerkstelligen is in muizen, zoals KO modellen. Beide, zowel muizen en ratten, worden gebruikt voor de overige medicatie types beschreven in de bijlage Projectvoorstel. Voor de experimenten zullen zowel mannelijke als vrouwelijke dieren in gelijke mate worden gebruikt.

Herkomst: Aankoop van commerciële, erkende leveranciers of andere instellingen. Via samenwerkingsverbanden of eigen fok. Momenteel hebben we 5 genetisch gemodificeerde foklijnen in de CDP in Groningen. De herkomst van de dieren zal afhangen van de onderzoeksvraag.

Levensstadia: Volwassen dieren.

Geschatte aantallen: In het I/R model zullen zowel mechanistische als functionele vraagstellingen worden

getest. Op basis van poweranalyse zullen per groep 9 dieren worden aangevraagd. De inclusie van 8 dieren per groep is met een power van 80% en een standaarddeviatie van 10% voldoende [Alpha 0.05]. Echter houden wij rekening met een maximale uitval van 10% per groep, wat neer komt op 1 extra dier per groep. Deze uitval van maximaal 10% is gebaseerd op eerdere ervaringen met het I/R model, waarbij uitval werd veroorzaakt door te diepe anesthesie of overschrijding van het ongerief door te slechte nierfuncties. Voorafgaand zal zoals eerder benoemd een pilot experiment worden uitgevoerd, waarbij minimaal 1 ischemietijd en maximaal 3 ischemietijden worden getest. Hierbij hebben we genoeg aan 4 dieren per groep.

Opzet experiment:

PILOT EXPERIMENT:

Groep 1: experimentele groep → ischemietijd A (n=4)

Groep 2: experimentele groep → ischemietijd B (n=4)

Groep 3: experimentele groep → ischemietijd C (n=4)

Groep 4: controle groep → geen ischemie (n=4)

Totaal per pilot experiment: **16** dieren

INTERVENTIE EXPERIMENT:

Groep 1: Ischemietijd X → wel interventie (n=9)

Groep 2: Ischemietijd X → geen interventie (n=9)

Groep 3: Controle groep – geen ischemie → wel interventie (n=9)

Groep 4: Controle groep – geen ischemie → geen interventie (n=9)

Totaal per interventie experiment: **36** dieren

Diersoort	[A] Dieren per groep in pilot	[B] Groepen in pilot	[C] Aantal dieren per groep +uitval	[D]Aantal groepen/ Exp	[E] Aantal Exp per jaar	[F] Totaal per jaar [A]x[B]x[E]+[C]x[D]x[E]	Totaal 5 jaar [F] x 5
Muizen	4	4	9	4	1	52	260
Ratten	4	4	9	4	1	52	260
Totaal						104	520

Per jaar worden er gemiddeld 2 I/R experimenten in ratten en muizen uitgevoerd. Dit brengt het totaal op **104** dieren per jaar. Voor 5 jaar zijn dit **520** dieren.

Er zijn minder pilot dieren nodig wanneer de opzet van het experiment, dus de ischemietijd, niet anders is dan bij een eerder experiment. Daarbij mag de tijd tussen het uitvoeren van de experimenten niet groter dan 1 jaar zijn in verband met verschillen in muizen/ratten lijnen. Hetzelfde geldt voor de controle groepen van de interventie experimenten.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij

het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: Momenteel is er nog geen optimaal in vitro model om het in vivo I/R model mee te simuleren. Door middel van in vitro experimenten wordt waar mogelijk voorwerk verricht over de te verwachten effecten van het middel tijdens de dierproef.

Vermindering: Wij reduceren het aantal dieren door vooraf uitgevoerde powercalculaties. Meer dieren zullen tijdens het experiment niet worden gebruikt. Daarnaast zullen onze biotechnici de omstandigheden tijdens de proef optimaal houden, waardoor variatie wordt gereduceerd en daarmee het aantal benodigde dieren. Daarnaast zullen we in het pilot experiment maar een ischemietijd per keer testen, waarbij wordt gestart met de in de literatuur meest optimale ischemietijd.

Verfijning: Door goede algehele anesthesie en pijnstilling perioperatief wordt de pijn geminimaliseerd. Daarnaast zullen de dieren de dagen na I/R goed worden gemonitord om de algehele conditie te beoordelen. Wanneer discomfort wordt overschreden zal het dier worden getermineerd.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Perioperatief zal pijnmedicatie worden toegediend. Door adequate monitoring wordt voorkomen dat het vooraf vastgestelde ongerief niet wordt overschreven. Mocht dit wel het geval zijn zullen gepaste maatregelen worden genomen.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Het I/R model is een bekend model, die in de literatuur meermaals wordt beschreven. Om er zeker van te zijn dat dit model niet eerder in dezelfde toepassing is gebruikt, zal voorafgaand een literatuurstudie worden gedaan en wordt de database van de CDP geraadpleegd. Dit zal vooraf naar de IvD worden gecommuniceerd.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

Na I/R worden de dieren individueel gehuisvest in verband met de abdominale wond.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Waar nodig zal in overleg met de welzijnscommissie meer pijnstilling in de vorm van lokale pijnverlichting worden toegepast. Door goede monitoring van de dieren zal worden gemonitord of dit voldoende is of dat er andere gepaste maatregelen moeten worden genomen.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Door wondpijn, het bijkomen uit de narcose en het ontwikkelen van een nierinfarct.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Oorzaken wondpijn: niet goed sluiten van de wond, approximeren van de wond, wondinfectie.

Oorzaken slecht bijkomen van narcose: langdurig onder anesthesie.

Oorzaken ontwikkelen infarct: slechte reperfusie na ischemie.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Wondpijn: perioperatieve pijnstilling.

Narcose: goede monitoring na narcose, waar nodig antidotum.

Nierinfarct: symptomen van nierfalen monitoren, waar nodig relaparotomie of andere gepaste maatregelen.

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

- Nierfalen. Voor het bepalen van de nierfunctie zal creatinine worden gemeten. De creatininelevels zullen worden gebruikt als maat voor de nierfunctie en kunnen daarmee ook als drempelwaarde fungeren voor de ontwikkeling van nierfalen.
- Gewichtsverlies van meer dan 15%
- Inactiviteit van het dier
- Conditie van de vacht
- Ontstekingsverschijnselen

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Dit hangt af van het gebruik van wildtype dieren of genetische gemodificeerde dieren. Op basis van eerder uitgevoerde experimenten met het I/R model wordt het percentage geschat op maximaal 10%.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Ischemie/reperfusie schade: Matig

Injecties: Licht

Totaal: Matig

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Uitname van organen is noodzakelijk voor het bereiken van de primaire eindpunten.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|--------------------------|
| 3.4.4.4. | Niertransplantatie model |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Het grote tekort aan donororganen is onze drijfveer om te onderzoeken hoe efficiënter kan worden omgegaan met de beschikbare donornieren. Het tekort aan donornieren wordt veroorzaakt door de toenemende vraag aan donornieren bij een tekort in aanbod. Momenteel wachten veel mensen op een nier, het terugdringen van deze wachttijden is van belang. Niet alleen voor de ontvanger, maar ook omdat uit onderzoek is aangetoond dat transplantaatfunctie negatief geassocieerd is met de duur van dialyse in de ontvanger. Alhoewel allerlei factoren van invloed zijn op de uitkomst van de transplantatie, is het belangrijk ook kritisch te kijken naar de transplantatie zelf. Want ook tijdens transplantatie zelf wordt schade aan de nier veroorzaakt door ontstekingsprocessen. En ook hier speelt het complement systeem een belangrijke rol in.

Keuze van transplantatiemodel:

Ons transplantatiemodel modelleert de niertransplantatie op dezelfde manier als in de mens. De reden waarom het transplantatiemodel is opgenomen in deze aanvraag is omdat dit model ideaal is om te kijken naar graft survival. Hierdoor kunnen we kijken naar de rol/invloed van het complement systeem op graft survival. Daarnaast kunnen we door middel van interventie kijken of de graft survival verbeterd qua overlevingstijd (=kwalitatief) en qua aantallen (=kwantitatief). Dit is het enige model waarbij we zowel kwantitatief als kwalitatief kunnen kijken naar de invloed van complement interventie. Als aanvulling hierop stelt het transplantatie model ons in staat een follow-up te modelleren. Waarbij we in staat zijn zowel naar de acute als chronische gevolgen van transplantatie te kijken. Momenteel is het transplantatiemodel alleen beschikbaar in ratten, echter vragen wij in deze aanvraag ook muizen aan, omdat wij het model willen opzetten in muizen. Vandaar dat wij dit model voor beide diersoorten aanvragen.

Uitkomstparameters:

De uitkomstparameters zijn de nierfunctie en de mate van nierschade. Wij hebben deze uitkomstparameters gekozen omdat deze parameters in de humane situatie ook als maatstaf voor nierfunctie worden gebruikt. Daarnaast zijn beide parameters valide te meten in dit model. De nierfunctie zal worden gemeten aan de hand van de hoeveelheid creatinine en ureum in het plasma en urine. De mate van nierschade wordt bepaald aan de hand van de mate van inflammatie, waarbij interleukine expressies worden bepaald.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Opzet:

DONOREN

Bij de donoren zal afhankelijk van de vraagstelling al dan niet een eerder genoemd model in bijlagen 1, 2 en 3 worden toegepast. Oftewel een combinatie van dit model met het hersendoodmodel, de preservatietechnieken of het ischemie/reperfusie model is mogelijk. Er vindt dubbelzijdige nefrectomie plaats onder algehele anesthesie. De volgende anatomische structuren worden vrijgeprepareerd: ureters, aorta caudaal van arteria renalis en de niervaten. Allen worden gecanuleerd en geflusht. Na nefrectomie wordt het dier getermineerd. Bloed, urine en organen worden uitgenomen en opgeslagen. Een van beide nieren wordt, afhankelijk van de anatomie gerecentreerd. De andere nier zal na uitname fungeren als controle voor de nierfunctie in de donor.

ONTVANGERS

De dieren die het transplantaat ontvangen zullen onder algehele anesthesie een enkelvoudige nefrectomie van een natieve nier ondergaan. Vervolgens krijgen de dieren een transplantaatnier. Na transplantatie zullen bloed en urine samples worden genomen. Na een bepaalde tijdsduur zullen de dieren worden getermineerd. Bloed, urine en organen worden uitgenomen en opgeslagen.

Afhankelijk van de vraagstelling wordt gebruik gemaakt van wildtype en/of genetisch gemodificeerde dieren. Daarnaast zal afhankelijk van de vraagstelling een middel worden toegediend in de donor en/of ontvanger. Dit kan oraal, intraveneus, intramusculair, subcutaan of intra peritoneaal zijn.

Een pilot experiment zal vooraf worden uitgevoerd om de optimale omstandigheden van transplantatie te bepalen. Hierbij moet worden gedacht aan het optimaliseren van de warme ischemietijden.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Op basis van eerdere experimenten kunnen we voor de meeste primaire uitkomstmaten een te verwachten effectgrootte voorspellen. Door middel van powercalculaties wordt daarmee het aantal dieren beperkt. Daarnaast zullen interindividuele verschillen tussen de dieren zo klein mogelijk worden gehouden om variatie tussen de dieren te beperken en daarmee het benodigde aantal dieren zo klein mogelijk te houden.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoorten: Muizen en ratten. Voor de experimenten zullen zowel mannelijke als vrouwelijke dieren in gelijke mate worden gebruikt.

Herkomst: Aankoop van commerciële, erkende leveranciers of andere instellingen. Via samenwerkingsverbanden of eigen fok. Momenteel hebben we 5 genetisch gemodificeerde foklijnen in de CDP. De herkomst van de dieren zal afhangen van de onderzoeksvraag.

Levensstadia: Volwassen dieren.

Geschatte aantallen: Met het transplantatiemodel zullen zowel mechanistische als functionele vraagstellingen worden onderzocht. Op basis van poweranalyse zullen per groep 10 dieren worden aangevraagd. De inclusie van 8 dieren per groep is met een power van 80% en een standaarddeviatie van 10% voldoende [α 0.05].

Uitval:

Echter houden wij rekening met een maximale uitval van 20% per groep, wat neer komt op 2 extra dieren per groep. Deze uitval van maximaal 20% komt door bijvoorbeeld een afwijkende anatomie of technische

complicatie. Voorafgaand zal zoals eerder benoemd een pilot experiment plaatsvinden. Hierbij wordt minimaal 1 conditie getest en maximaal 3. Hierbij moet worden gedacht aan het optimaliseren van warme ischmietijden.

Opzet experiment:

PILOT EXPERIMENT:

Groep 1: Conditie A (n=4 donors, n=4 ontvangers)

Groep 2: Conditie B (n=4 donors, n=4 ontvangers)

Groep 3: Conditie C (n=4 donors, n=4 ontvangers)

Totaal per pilot experiment: **24** dieren

INTERVENTIE EXPERIMENT:

Groep 1: Tx → wel interventie (n=10 donors, n=10 ontvangers)

Groep 2: Tx → geen interventie (n=10 donors, n=10 ontvangers)

Groep 3: Controle groep → wel interventie (n=10 donors, n=10 ontvangers)

Groep 4: Controle groep → geen interventie (n=10 donors, n=10 ontvangers)

Totaal per interventie experiment: **80** dieren

Dieren	[A]Donors pilot	[B] Ontvangers pilot	[C] Groups pilot	[D] Donors exp	[E] Ontvangers exp	[F] Groups exp	[G]Totaal /jaar [A+BxC]+[D+ExF}	Totaal/ 5 jaar [G]x5
Muizen	4	4	3	10	10	4	104	520
Ratten	4	4	3	10	10	4	104	520
Totaal							208	1040

Per jaar wordt gemiddeld 1 transplantatie experiment in ratten uitgevoerd. Echter willen we het transplantatiemodel ook lopend maken in muizen. Dus gaan wij uit van 2 transplantatiemodellen per jaar. Dit brengt het totaal op **208** dieren per jaar. Voor 5 jaar zijn dit **1040** dieren. Mocht het niet lukken het transplantatiemodel lopend te maken in muizen, zullen de dieren aangevraagd onder kopje muizen niet worden gebruikt.

Criteria Transplantatiemodel muizen

GO/NO GO 1: Het transplantatiemodel zal alleen worden opgezet in muizen wanneer meerdere onderzoeksvragen worden beantwoord. Kortom we moeten aan de hand van de experimenten iets kunnen zeggen over: graft survival, de rol van het complement systeem op deze graft survival en de daarbij behorende acute/chronische complicaties.

GO/NO GO 2: Het transplantatiemodel zal alleen worden opgezet wanneer er een goede basis is. Dit houdt in dat er genoeg kennis is vergaard met de andere drie beschreven modellen. Kortom: mechanistische en functionele vraagstellingen zullen eerst moeten zijn getest of onderzocht in de andere modellen, voordat ze worden toegepast op het transplantatiemodel. De resultaten in de moeten positief zijn.

GO/NO GO 3: De pilot studie moet goede resultaten laten zien. Dit betekent dat binnen het aantal beschikbare dieren het model geoptimaliseerd moet zijn. Als tijdens deze pilot studie blijkt dat de gestelde doelen met betrekking tot bijvoorbeeld ischmietijd of bijvoorbeeld overlevingsduur na transplantatie niet haalbaar is, zal er niet worden doorgegaan met het valideren van dit model.

GO/NO GO 4: Als tijdens het experiment blijkt dat bepaalde groepen in het transplantatiemodel te kwetsbaar zijn [geen goede resultaten, veel ongerief of zelfs sterfte] zal het experiment worden stopgezet.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welk keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: Momenteel is er nog geen in vitro model aanwezig waarin ons beschreven project kan worden verricht.

Vermindering: zo min mogelijk dieren worden gebruikt door middel van powercalculatie en het meenemen van ervaringen uit eerdere experimenten. Bij het uitvoeren zullen we tevens gebruik maken van de expertise van het microchirurgisch team van de CDP. Daarnaast zullen we in het pilot experiment maar een conditie per keer testen, waarbij wordt gestart met de in de literatuur meest optimale conditie.

Verfijning: Perioperatief zal pijnstilling worden gegeven. De dagen na de operatie zullen de dieren extra worden gemonitord op ongerief. Er zal gelet worden op discomfort en zo nodig gepaste maatregelen worden genomen.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Perioperatief zal pijnstilling worden gegeven. Daarnaast kunnen creatininelevels in het urine worden bepaald om inzicht te krijgen in de nierfunctie en het risico op het ontwikkelen van nierfalen.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Voor zover bekend uit literatuurstudies is het transplantatiemodel nog niet eerder in deze context toegepast.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

Na transplantatie zullen de dieren individueel worden gehuisvest.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Adequate anesthesie en pijnbestrijding perioperatief.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Door wondpijn, het bijkomen uit de narcose en het ontwikkelen van een nierinfarct.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Oorzaken wondpijn: niet goed sluiten van de wond, approximeren van de wond, wondinfectie.

Oorzaken slecht bijkomen van narcose: langdurig onder anesthesie.

Oorzaken ontwikkelen infarct: slechte reperfusie na ischemie.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Wondpijn: perioperatieve pijnstilling.

Narcose: goede monitoring na narcose, waar nodig antidotum.

Nierinfarct: symptomen van nierfalen monitoren of andere gepaste maatregelen.

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

- Nierfalen. Voor het bepalen van de nierfunctie zal creatinine worden gemeten. De creatininelevels zullen worden gebruikt als maat voor de nierfunctie en kunnen daarmee ook als drempelwaarde fungeren voor de ontwikkeling van nierfalen.
- Gewichtsverlies van meer dan 15%
- Inactiviteit van het dier
- Conditie van de vacht
- Ontstekingsverschijnselen

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Dit hangt af van het gebruik van wildtype dieren of genetische gemodificeerde dieren. Op basis van eerder uitgevoerde experimenten met het transplantatie model wordt het percentage geschat op 20%, zoals aangegeven in B.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Donoren:

Dubbelzijdige nefrectomie en terminatie onder anesthesie [terminaal]

Injecties onder anesthesie

[licht]

Ontvanger:

Niertransplantatie en enkelvoudige nefrectomie [ernstig]

Nefrectomie native nier [ernstig]

Injecties [licht]

Het totale ongerief bij de dieren is voor de donoren geschat op terminaal ongerief. Voor de dieren die het transplantaat ontvangen wordt het totale ongerief op ernstig geschat. Omdat de dieren zowel een dubbelzijdige nefrectomie als een niertransplantatie onder anesthesie zullen ondergaan.

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Uitname van organen is noodzakelijk voor het bereiken van de primaire eindpunten.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1

9713 AV GRONINGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD1050020171245

Bijlagen

1

25 APR 2017

Datum 24 april 2017

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Op 30 maart 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Het verbeteren van uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem." met aanvraagnummer AVD1050020171245. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 20 en 24 april 2017 heeft u uw aanvraag aangevuld. Dit betrof een nieuwe NTS vanwege terminologie en de weergave van het aantal dieren per diersoort; een nieuw Projectvoorstel waarin het belang van het onderzoek beter wordt weergegeven; het gebruik van één of beide geslachten; het aantal dieren voor de pilotstudie en het cumulatief ongerief voor de donordieren.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning.

Met het oog op artikel 10a, lid 1, zijn er algemene voorwaarden gesteld.

U kunt met uw project "Het verbeteren van uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem." starten. De vergunning wordt afgegeven van 24 april 2017 tot en met 1 april 2022.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Beoordeling achteraf

Na afloop van het project zal er een beoordeling plaatsvinden, zoals bedoeld in artikel 10a1, lid 1d en lid 3, in de wet. Meer informatie over de eisen bij een beoordeling achteraf vindt u in de bijlage.

Er is sprake van ernstig ongerief.

Datum:

24 april 2017

Aanvraagnummer:

AVD1050020171245

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-RUG gevoegd. Dit advies is opgesteld op 30 maart 2017. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Dit advies van de commissie nemen wij over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

Het DEC-advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze nummers in de rechter kantlijn in deze brief.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op

<http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven



Algemeen Secretaris

Bijlagen:

- Vergunning
- Hiervan deel uitmakend:
 - DEC-advies
 - Weergave wet- en regelgeving



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Rijksuniversiteit Groningen

Adres: A. Deusinglaan 1

Postcode en plaats: 9713 AV GRONINGEN

Deelnemersnummer: 10500

deze projectvergunning voor het tijdvak 24 april 2017 tot en met 1 april 2022, voor het project "Het verbeteren van uitkomst na niertransplantatie door gerichte interventie in het complement systeem." met aanvraagnummer AVD1050020171245, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-RUG. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 30 maart 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 20 april 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 24 april 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 30 maart 2017, ontvangen op 30 maart 2017.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 20 en 24 april 2017

Aanvraagnummer:
AVD1050020171245

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1 Hersendoodinductiemodel				
	Muizen (<i>Mus musculus</i>) /	280	Licht	
	Ratten (<i>Rattus norvegicus</i>) /	480	Licht	
3.4.4.2 Preservatietechnieken				
	Ratten (<i>Rattus norvegicus</i>) /	580	Terminal	
3.4.4.3 Ischemie/Reperfusie model				
	Muizen (<i>Mus musculus</i>) /	260	Matig	
	Ratten (<i>Rattus norvegicus</i>) /	260	Matig	
3.4.4.4 Niertransplantatie model				
	Muizen (<i>Mus musculus</i>) /	520	50% Terminal 50% Ernstig	
	Ratten (<i>Rattus norvegicus</i>) /	520	50% Terminal 50% Ernstig	

Aanvraagnummer:
AVD1050020171245

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 van de Wet op de dierproeven zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

In dit project worden dierproeven toegepast die vallen in de categorie ernstig volgens artikel 10b van de wet en wordt daarom voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk juli 2022 plaatsvinden. Er zal dan beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt. Daarnaast wordt bekeken of de schade die de dieren hebben ondervonden, het aantal en soorten proefdieren en de ernst de dierproeven conform de vergunning waren.

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat go/no go momenten worden afgestemd met de IvD.

In artikel 10, lid 1 sub a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in afstemming met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.



Aanvraagnummer:

AVD1050020171245

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de Dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister een ontheffing is verleend.

Verzorging

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn

Aanvraagnummer:
AVD1050020171245

kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Einde van een dierproef

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijvende schade zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand.

Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

Uit artikel 13d volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13c is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.

De Minister heeft vrijstelling ontheffing verleend volgens artikel 13c, die de afwijkende methode van doden op basis van wetenschappelijke motivering ten minste even humaan acht als de in de richtlijn opgenomen passende methoden.

Beoordeling achteraf

Volgens artikel 10a1, lid 1d en lid 3 van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld worden.