

Datum ontvangst DEC:

DEC nr:

DIEREXPERIMENTENCOMMISSIE TNO**AANMELDINGSFORMULIER VOOR EEN NIEUW ONDERZOEKSPLAN**

Dit formulier dient uiterlijk **7 werkdagen** voor de DEC vergadering (zie TNO Bulletin Dierproeven en Alternatieven op Intranet) volledig ingevuld in het bezit te zijn van:

Secretaresse DEC en proefdierdeskundige

[redacted]

[redacted]

E-mail: [redacted]

telefoon: [redacted] / fax: [redacted]

Kerngebied en locatie: TNO [redacted]

ALGEMEEN**1. Onderzoeksplan****1.1. titel:**

Implementatie van pijn metingen voor rat artrose

1.2. studienummer:

nvt

1.3. titel van het onderzoeksproject, waarvan deze dierproef deel uitmaakt (indien van toepassing):

nvt

2. Verantwoordelijk onderzoeker (ex art. 9 WOD):

E-mail adres onderzoeker:

Telefonisch bereikbaar tijdens DEC-vergadering onder telnr:

[redacted]

[redacted]

[redacted]

Medewerkers (ex art. 9 WOD/ ex art. 12 WOD):

[redacted]

[redacted]

[redacted]

[redacted]

[redacted]

Externe samenwerking (indien van toepassing):

[redacted], [redacted] en [redacted] hebben geadviseerd over de te implementeren pijn analyses die relevant zijn voor artrose.

3. Geplande aanvangsdatum onderzoeksplan:

z.s.m. na goedkeuring DEC

(Opmerking: definitieve aanvangsdatum z.s.m. doorgeven aan de proefdierdeskundige o.v.v. DEC nr., via e-mail: [redacted])

Geplande duur van de onderzoeksplan:

8 maanden

Locatie waar dieren worden gehouden:

TNO [redacted]

[redacted]

4. Codenummers volgens VWA-registratie:

Groep	< kolommen >												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	1	02	1	12	33	1	1	01	01	1	1	2	1
2	1	02	1	12	33	1	1	01	01	4	4	3	1
3	1	02	1	12	33	1	1	01	01	4	4	3	1
4	1	02	1	12	33	1	1	01	12	4	4	3	1
5	1	02	1	12	33	1	1	01	12	4	4	3	1

RELEVANTIE

5. Welke concrete vraag/vragen wilt u met deze dierproef beantwoorden:

Implementatie van relevante standaard pijn metingen in rat artrose modellen

Achtergrond: Artrose (het engelse osteoarthritis of OA) of kraakbeenslijtage is één van de meest voorkomende ouderdomsaandoeningen. Tien procent van de 60-plussers heeft chronische pijn en gewrichtsdeformaties vanwege OA en is daardoor ernstig gehinderd in het dagelijks functioneren. De farmaceutische industrie heeft zich lang alleen maar gericht op het ontwikkelen van medicijnen die weefselaafbraak (karakteristiek voor artrose) tegengaan. Mede onder druk van de FDA en patiëntenorganisaties is de aandacht de laatste jaren verschoven en wordt symptoom-, en dus pijnbestrijding ook erg belangrijk. Hiertoe moeten de bestaande diermodellen voor artrose uitgebreid worden met uitleesmaten die specifiek zijn voor gewrichtspijn door artrose. We hebben inmiddels van 7 bedrijven concrete vragen gehad om deze artrose pijn modellen uit te voeren. Een eerste stap hierbij is de implementatie van 'standaard' pijn analyses (dit is dan ook het doel van de huidige aanvraag). Vervolgstappen zijn verdere specificatie bijvoorbeeld door een combinatie van bewegingsanalyse, vocalisatie, telemetrie etc. Of eventueel biochemische markers die relevante pijn gerelateerde processen reflecteren. Dit zijn echter langere, complexe trajecten die in de toekomst, samen met bedrijven opgezet moeten worden (█ heeft hiervoor reeds belangstelling getoond). De eerste stap is het implementeren van de basisbepalingen. Hiervoor hebben we gekozen voor twee complementaire modellen.

[1] het kortdurende rat iodoacetaat model waarbij door intra-articulaire injectie van iodoacetaat artrose wordt opgewekt met pijn in het gewricht. Dit model wordt door vrijwel alle bedrijven gebruikt omdat het een degelijk en relatief snel model (eerste verschijnselen na paar dagen tot een week) van artrose-gerelateerde gewrichtspijn is. Dit is tegelijk het nadeel, omdat de artrose snel is (en in de mens langzaam) en de chemische inductie van de artrose anders is dan de artrose in de mens, waardoor in dit model het aspect van weefseldestructie minder goed lijkt op de ziekte in de mens dan model [2] (zie hieronder).

[2] het mildere rat MNX/ACLT model dat ook al beschreven is als artrosepijn model. Het model geeft een beter op de mens gelijkende artrose (ook bij de mens leidt meniscus en kruisband letsel tot artrose). Het model duurt echter langer (3-6 weken) en heeft meer variatie dan model [1].

Het operationeel hebben van pijnmetingen in deze modellen maakt dat we enerzijds opdrachten voor bedrijven kunnen uitvoeren en anderzijds een basis hebben voor verdere ontwikkeling van betere pijn metingen voor artrose. Ook biedt het op termijn de mogelijkheid pijnmetingen (mogelijk na aanpassingen) te doen in de artritis (rat adjuvant en collageen artritis) modellen.

6. Omschrijf het maatschappelijk en wetenschappelijk belang van dit onderzoeksplan:

6.a Maatschappelijk belang (meer dan één onderdeel kan van toepassing zijn):

6.a.1 Gezondheid mens/dier

Artrose (het engelse osteoarthritis of OA) of kraakbeenslijtage is één van de meest voorkomende ouderdomsaandoeningen. Tien procent van de 60-plussers heeft chronische pijn en gewrichtsdeformaties vanwege OA en is daardoor ernstig gehinderd in het dagelijks functioneren. Mede door de vergrijzing zal het aantal patiënten de komende jaren sterk groeien. Helaas is er momenteel geen geneesmiddel beschikbaar tegen OA en patiënten worden voornamelijk behandeld met generieke pijnstillers, hoewel het onduidelijk is wat de artrose pijn veroorzaakt en veel van de pijnstillers bij chronisch gebruik bijwerkingen vertonen. OA staat hierdoor in de top-5 van kosten voor de gezondheidszorg in Europa. Er is dus zowel vanuit patiënten als vanuit economisch perspectief een grote behoefte aan nieuwe geneesmiddelen die kraakbeenslijtage afremmen dan wel genezen en die de symptomen (pijn, bewegingsbeperking) verminderen. In dit kader wordt artrose in het WHO rapport over 'Priority Medicine' ook specifiek benoemd als ziekte waarvoor het ontwikkelen van biomarkers en therapieën essentieel is.

6.a.2 Economisch belang

Het chronische karakter van de ziekte, de toenemende mate van invaliditeit en het ontbreken van enige therapie (m.u.v. pijnstilling) maakt OA een ziekte die relatief hoge kosten met zich meebrengt, die uiteenvallen in de directe medische kosten en daarnaast de indirecte kosten als gevolg van (gedeeltelijke) arbeidsongeschiktheid. De 'Bone and Joint Decade' (een WHO initiatief om de kwaliteit van leven van mensen met aandoeningen aan het bewegingsapparaat te verbeteren) geeft aan dat: '...The economic consequences of osteoarthritis are enormous, for example, it is rated the highest cause of work loss in USA, despite being a condition that causes most problems to populations after retirement age...'

6.a.3 Milieu belang

nvt

6.a.4 Maatschappelijk belang, anders dan 6.a.1-3

Het chronische progressieve karakter van de ziekte is in toenemende mate belastend (zowel fysiek als psychisch) voor zowel patiënt als directe omgeving (familie/verzorgers).

6.b Wetenschappelijk belang:

In de laatste tien jaar heeft TNO Kwaliteit van Leven in haar business unit BioSciences grote expertise opgebouwd op een aantal ziektegebieden, waaronder gewrichtsaandoeningen (artrose en reuma), fibrose, hart- en vaatziekten, ontstekingsziekten en neurologische aandoeningen. Deze kennis is mede gestoeld op een groot aantal *in vitro* en *in vivo* ziektemodellen, die momenteel worden toegepast om ziektemechanismen op te helderen en biomarkers te identificeren, om geneesmiddelen te testen in samenwerking met farmaceutische en biotechnologie bedrijven, om voedingsinterventies te testen in samenwerking met bedrijven, en om onze eigen ziekte targets te ontwikkelen en patenteren. De huidige studie valt in dit kader binnen de ontwikkeling van nieuwe meet-methodes in diermodellen voor artrose.

7.

Is of wordt de wetenschappelijke kwaliteit van dit onderzoeksplan of het totale onderzoeksproject beoordeeld? Zo ja, door welk daartoe aangewezen college, in welke context en met welk resultaat?

De huidige studie is getoetst op wetenschappelijke kwaliteit tijdens overleg tussen projectleiders / senior onderzoekers binnen TNO, besproken met twee pijn-experts uit Canada en besproken met vertegenwoordigers van farmaceutische bedrijven.

Zo nee, waarom niet?

PROEFOPZET

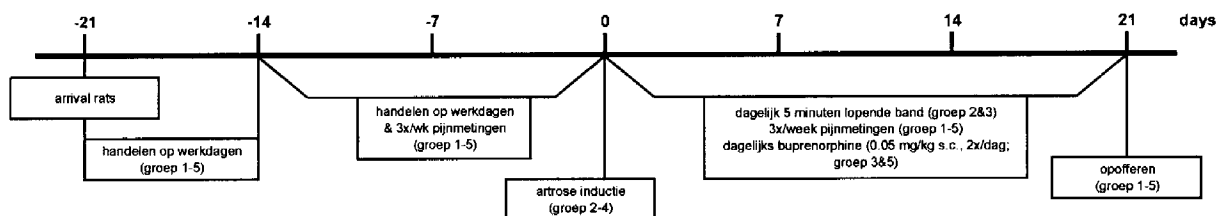
8. Wat is de aard van deze dierproef (meer dan 1 rondje kan van toepassing zijn):

- nieuw onderzoeksplan (ook bij gebruik van bestaande modellen met nieuwe behandeling/ teststof)
- ☐ herhaling van reeds eerder aan DEC voorgelegd en uitgevoerd onderzoeksplan, DECnr.:
- ☐ proef op grond van wettelijke eisen, hierna te specificeren:
 - wettelijke eis:
 - testrichtlijn:
- ☐ proef waarbij biotechnologische handelingen worden verricht zoals bedoeld in Art. 66 van de Gezondheids- en welzijnswet voor dieren
- ☐ anders, n.l.:

9. Aan welke behandelingen worden de dieren onderworpen?

Omschrijf zodanig dat dit op het niveau van het individuele dier duidelijk wordt, met inbegrip van het tijdschema en de frequentie waarmee behandelingen worden uitgevoerd. Beschrijf daarbij alle experimentele technieken waaraan de dieren worden onderworpen, met inbegrip van ingrepen, doseringstechnieken, euthanasietechnieken, enz. Verwijs, voorzover van toepassing, naar standaard studieplan voor de nadere uitwerking.

In het tijdschema hieronder wordt de complete studie grafisch weergegeven. Vervolgens worden de afzonderlijke handelingen puntsgewijs beschreven.



- Op dag -21 komen de 5 x 12 = 60 mannelijke Wistar ratten (>12 weken oud) binnen.
- De ratten worden gerandomiseerd aan de hand van het gewicht over de volgende 2 onderzoeksgroepen:

[1] Gezond	n=12
[2] Artrose	unilateraal MNX/ACLT operatie n=12
[3] Artrose + pijnstilling	unilateraal MNX/ACLT operatie & 2x/dag 0.05 mg/kg buprenorphine n=12
[4] Artrose	unilateraal iodoacetaat injectie n=12
[5] Artrose + pijnstilling	unilateraal iodoacetaat injectie & 2x/dag 0.05 mg/kg buprenorphin n=12
- Vanaf binnenkomst (dag -21) tot dag -14 worden de ratten gehandeld en op werkdagen dagelijks kort op de pijnmeting apparatuur geplaatst om te wennen
- Tussen dag -14 en de dag van de inductie van artrose (dag 0) worden alle ratten gehandeld en worden 3x op werkdagen (maandag, woensdag en vrijdag) baseline pijnmetingen uitgevoerd; te weten: pootbelasting (incapacitance test), tactiele allodynia (plantar von frey hair test) en

thermische allodynia (plantar thermal test). Dit wordt gedaan om enerzijds baseline pijnmetingen te verkrijgen, anderzijds worden hiermee tegelijkertijd de biotechnici getraind in het uitvoeren van deze metingen. Wanneer we tegen praktische problemen aanlopen bij de implementatie van deze technieken zullen we in overleg met de proefdierdeskundige bespreken of deze training en baseline waarde periode met een week moet worden verlengd.

De gekozen drie complementaire pijnmetingen worden door beide geraadpleegde experts (■■■■ en ■■■■) geadviseerd, worden ook in industriële setting (■■■■, ■■■■ ■■■■ gebruikt (incapacitance) of geïmplementeerd (allodynia)), en staan in de literatuur beschreven. Er is gekozen om thermische allodynia niet mbv tail flick test te doen, maar middels plantar test waarbij mbv thermische prikkel voetzool wordt gestimuleerd, omdat dit relevanter is voor gewrichtsaandoeningen in de poot.

- Op dag 0 wordt artrose geïnduceerd in alle ratten van groep [2] en [3] door meniscectomie en ACL transectie, zoals beschreven in DEC2022 en hieronder weergegeven:
 - De operatie wordt aseptisch uitgevoerd onder isofluraan anesthesie.
 - De ratten worden tijdens de operatie op 37°C gehouden m.b.v. een warmteplaat.
 - Knieën worden geschoren en gedesinfecteerd.
 - Aan de mediale zijde wordt een incisie in de huid gemaakt
 - Een hemostat wordt gebruikt om kleine bloedingen zo snel mogelijk te stelpen.
 - Aan de mediale zijde van de knieschijfpees wordt een incisie gemaakt om vervolgens de patella naar de laterale zijde weg te klappen.
 - De voorste kruisband wordt doorgehaald en de mediale meniscus wordt verwijderd.
 - Het gewricht wordt gespoeld met een steriele en lichaamswarme fysiologische zoutoplossing.
 - Na terugplaatsing van de patella wordt de wond gehecht (4-0 Safil violet oplosbaar, snijdend ds 19).
 - Temgesic (buprenorphine; 0.04 mg/kg s.c.) wordt gegeven als pijnstilling (éénmalig, direct na de operatie).
 - Na de operatie krijgen de ratten 2-3 ml warme dextrose-saline s.c. en worden op 37°C gehouden m.b.v. een warmteplaat.
- Op dag 0 wordt artrose geïnduceerd in alle ratten van groep [4] en [5] door een éénmalige unilaterale intra-articulaire injectie van 50 µl fysiologisch zout met daarin 0.3 mg mononatrium iodoacetaat. De contra-laterale controle knie krijgt een intra-articulaire injectie van alleen 50 µl fysiologisch zout.
- Vanaf dag 1 tot opofferen (dag 21) worden de ratten uit groepen 2 en 3 op werkdagen (maandag-vrijdag) 1x per dag gedurende 5 minuten op de lopende band gezet om middels deze milde extra belasting het artrose proces te versnellen. De hiervoor aangeschafte lopende band is door onszelf gemodificeerd zodat de 'shocker' niet meer nodig is en de ratten toch goed op de band blijven lopen.
- Vanaf dag 0 tot opofferen (dag 21) wordt van alle ratten 3x per week (maandag, woensdag en vrijdag) pootbelasting (incapacitance), tactiele allodynia (plantar von frey hair test) en thermische allodynia (plantar thermal test) bepaald als maten voor artrose pijn.
- Vanaf dag 1 tot opofferen worden de ratten uit groepen 3 en 5 tweemaal daags subcutaan behandeld met 0.05 mg/kg buprenorphine.
- Op dag 21 worden alle ratten opgeofferd (CO₂) en worden weefsels (gewrichten), gewrichtsvloeistof, serum en plasma opgeslagen voor macroscopische, histologische en biomarker analyses

10. Beschrijf de proefopzet en geef het proefschema bij voorkeur volgens onderstaand voorbeeld:

GROEP	BEHANDELING	BIOTECHNISCHE HANDELING(EN)	AANTAL	SEXE
Groep 1	Zie punt 9; alle behandelingen en biotechnische handelingen worden daar puntsgewijs beschreven.		12	M
Groep 2			12	M
Groep 3			12	M
Groep 4			12	M
Groep 5			12	M

11. Hoeveel dieren zullen in totaal worden gebruikt? Onderbouw dit aantal op basis van statistische parameters, literatuurgegevens of verwijs, indien van toepassing, naar proefopzet/standaard studieplan: Indien reservedieren voor het onderzoeksplan worden bestemd, dient dit nader te worden gespecificeerd. Motiveer de noodzaak voor reservedieren en het aantal, en geef aan welke behandelingen deze dieren eventueel ondergaan.

Totaal **60 ratten** in 5 experimentele groepen van elk 12 ratten.

Dit is de eerste keer dat de huidige pijn parameters gemeten zullen worden door onszelf. Dus op grond van eigen gegevens is nog geen poweranalyse te maken. Op grond van literatuur is gekozen voor 12 ratten per groep. Beyreuther et al, Arthritis Res Therap: gebruikt 12 ratten per groep voor iodoacetaat model en tactiele allodynia laat zien dat een nieuw pijnstillert (lacosaimide) artrose pijn onderdrukt, vergelijkbaar met morfine. Aangezien dit ook de experimentele set-up is van de huidige studie, hebben we ervoor gekozen hetzelfde aantal dieren te gebruiken, en na afloop van de studie op grond van onze eigen gegevens een poweranalyse te doen voor vervolgstudies.

PROEFDIEREN, HUISVESTING EN VERZORGING

12. Welke diersoort, welk ras/stam en welke sexe worden gebruikt? Licht de gemaakte keuze toe:

N.B. indien sprake is van een transgene lijn, in Nederland gemaakt na 1 april 1997, dient hiervoor een vergunning door de Minister van LNV te zijn verleend. Specificeer bij vraag 8.

>12 weken oude Wistar ratten – deze stam wordt in de literatuur meestal gebruikt voor artrose modellen. De ratten komen van Harlan of Charles River. Mannetjes worden gebruikt (zijn zwaarder en belasten daardoor hun gewrichten meer dan vrouwtjes, zodat de artrose sneller optreedt). Leeftijd (>12 weken) is gebaseerd op consensus tijdens CAN Meeting on Preclinical models for OA.

13. Wat is de herkomst van de dieren:

- aangekocht van proefdierfokker
- ☐ aangekocht elders, n.l.:
- ☐ overcomplete dieren
- ☐ eigen fok
- ☐ reeds eerder gebruikte proefdieren (geef aan in welk soort dierproef)
- ☐ anders, n.l.:

14. Wat is het eindpunt van de dierproef:

- euthanasie ten behoeve van de proef
- ☐ euthanasie na afloop van de proef
- ☐ gebruik voor een volgende proef
- ☐ andere vergunninghouder

O anders, n.l.:

15. Hoe worden de dieren gehuisvest en verzorgd?

Vermeld groepssamenstelling, kooitype, voedersysteem en andere zaken die relevant zijn voor het welzijn van de dieren.

Type 3 bakken met 2 ratten per bak

Voedsel (Ssniff; Bio-services) en water (pH 2,8) ad libitum

ONGERIEF

16. Beschrijf de aard van het ongerief:

Geef hierbij, gespecificeerd **per handeling** of mogelijk gevolg van doseringen, het ongerief dat de dieren waarschijnlijk ondergaan.

Groep(en) ¹	Aantal dieren ²	(be)handeling en effecten ³	Tijdsduur of frequentie ⁴	Verwachte mate van ongerief ⁵
1-5	60	Pijnmetingen van dag -14 tot dag 21. Let op: i.t.t. artritis modellen hebben artrose ratten geen ontstoken/gezwollen pootjes en lopen ze normaal, wat ongerief door pijnmetingen aan poot als gering/matig (mede in overleg met proefdier deskundige)	Vijf weken lang, 3x per week	2
2-3	24	Artrose operatie (MNX/ACLT) onder isofluraan anesthesie met éénmalig pijnstilling	Dag 0	3
2	12	Artrose ontwikkeling	Dag 0 tot 21	3
3	12	Artrose ontwikkeling met buprenorfine pijnstilling; s.c.	Dag 0 tot 21	2
4-5	24	Artrose start door iodoacetaat injectie in gewricht onder isofluraan anesthesie met éénmalig pijnstilling	Dag 0	3
4	12	Artrose ontwikkeling	Dag 0 tot 21	3
5	12	Artrose ontwikkeling met buprenorfine pijnstilling; s.c.	Dag 0 tot 21	2
1-5	60	Euthanasie (CO ₂)	Dag 21	1

Toelichting:

- 1 Vermeld op 1 regel alle proefgroepen waarbij het ongerief naar verwachting gelijk zal zijn als gevolg van de beschreven (be)handeling (kolom 3).
- 2 Vermeld het aantal dieren dat met de onder 1 aangegeven groepen gemoeid is.
- 3 Vermeld (be)handeling overeenkomstig vraag 9 en 10, vermeld tevens effecten die het gevolg zijn van de (be)handeling en die ongerief kunnen veroorzaken.
- 4 Tijdsduur wordt in uren, dagen, weken (resp u, d, w) uitgedrukt. Frequentie heeft betrekking op het aantal maal dat een (be)handeling wordt verricht (b.v. bloedmonsters, gavage).
- 5 Vermeld het ongerief dat verwacht wordt bij de (be)handeling of het behandel-effect.

Gebruik de codering:

Code 1: gering

Code 2: gering/matig

Code 3: matig

Code 4: matig/ernstig

Code 5: ernstig

Code 6: zeer ernstig

[Zeer ernstig ongerief is op wettelijke gronden niet toelaatbaar indien geen sprake is van essentiële belangen van de mens.]

- 6 Vermeld bij vraag 17 het ongerief dat verwacht wordt t.g.v. alle (be)handelingen en effecten, die de omschreven groep(en) ondervinden met gebruikmaking van de codes onder punt 5 code 1 t/m 5.

17. Geef een inschatting van het totale verwachte ongerief voor het proefdier

Op basis van de tabel onder vraag 16 wordt per groep het totale ongerief geschat.

Groep(en) ¹	Aantal dieren ²	Totaal ongerief ⁶
1	12	2
2	12	3
3	12	3
4	12	3
5	12	3

18. Wat wordt gedaan om eventuele pijn, stress of ander ongerief te verminderen, respectievelijk te voorkomen?

Beschrijf hier anesthesie, pijnbestrijding, aangepaste huisvesting e.d.

Chronische pijnbestrijding wordt in groepen 3 en 5 toegepast. Uit literatuur en voorgaande studies met ratten en cavia's weten we dat veel artrose modellen niet tot (visuele waarneembare) pijn a.g.v. de artrose leidt. Echter de hier gebruikte iodoacetaat en MNX+ACLT modellen zijn beide wel beschreven als een model waarin naast de ontwikkeling van artrose ook naar gedrag in relatie tot pijn gekeken kan worden. Het opzetten van analyses van artrose-pijn is het doel van deze DEC aanvraag, en daarvoor is het natuurlijk ook essentieel dat een beschreven pijnstillers (morfine) de gemeten pijn kan onderdrukken. Omdat pijnstilling het loopgedrag en daarmee de belasting van een artrotisch gewricht verandert, zijn ook onbehandelde groepen nodig om te achterhalen of pijnstilling gedurende de gehele studie interfereert met de artrose ontwikkeling (histologie en biomarkers).

Kortdurende post-operatieve pijnstilling zal wel worden toegepast in groepen 2 en 3.

19. Op welke indicatie (criteria!) worden dieren uit de proef genomen, dan wel voortijdig gedood?

Dieren worden continue beoordeeld op algemeen welbevinden en mobiliteit. Indien de mobiliteit achteruit (dit wordt niet verwacht op grond van voorgaande artrose experimenten) gaat zal aandacht besteedt worden aan verkrijgen van voldoende voedsel / drinken. Dieren worden uit de proef genomen bij meer dan 15% verlies aan lichaamsgewicht a.g.v. de ziekte (op individuele basis)

20. Zijn er bijkomende risico's te voorzien, en wat is de kans hierop?

Specificeer hier het risico op en de aard van mogelijke complicaties, in aanvulling op het antwoord op vraag 16 en in samenhang met de beantwoording van vraag 19.

Onwaarschijnlijk. De modellen zijn goed beschreven en complicaties op grond van de ziekte zijn niet te verwachten. Natuurlijk is er een inherent risico aan een operatieve ingreep dat de ratten dit niet overleven, maar op grond van onze ervaring met ratten operaties is dit ook onwaarschijnlijk.

ALTERNATIEVEN

21. Welke alternatieve methoden (in termen van vervanging, vermindering, verfijning), zowel *in vivo* als *in vitro*, bestaan voor deze dierproef?

Geef aan, in relatie tot het antwoord op vraag 5 (doel van de proef), waarom alternatieven (in vivo én in vitro) in dit geval niet bruikbaar zijn:

- **Vervanging:** Er zijn geen geschikte alternatieven voor het diermodel voorhanden omdat pijn metingen een levend organisme vereisen.

- **Vermindering:** van het aantal proefdieren in deze studie is moeilijk. Formele power berekeningen moeilijk zijn in artrose modellen omdat er geen gevalideerde therapie is en omdat er te weinig informatie is over de spreiding in uitkomst maten. Bij de power berekening / verantwoording van aantal dieren, is aangegeven dat we nu dezelfde groepsgrootte aanhouden als een gepubliceerde studie. Op grond van onze eigen gegevens kunnen we in de toekomst zelf power berekeningen gaan doen. Ik verwacht dat we pas over een aantal studies een indruk kunne krijgen of de huidige groepsgrootte (12) verminderd kan worden. In de huidige studie is het niet mogelijk het aantal groepen te verminderen.
- **Verfijning** is zou in de huidige studie betekenen dat we met minder ongerief de artrose induceren. Dat lijkt niet mogelijk omdat de chirurgische ingreep en de i.a. injectie al minimaal invasief wordt uitgevoerd. Ook zouden de pijn metingen met minder ongerief uitgevoerd moeten worden om verfijning te bewerkstelligen. Dat lijkt vooralsnog ook niet mogelijk (er worden standaard methoden gebruikt die zelf weinig ongerief met zich meebrengen).

Geef ook aan in welke zin eventueel gebruik wordt gemaakt van alternatieve methoden:

nvt

22. Is info of advies gevraagd over alternatieve methoden aan:

O TNO-Netwerk voor Alternatieven, tel. [REDACTED]

O Art. 14 functionaris ([REDACTED], tel [REDACTED])

O Nationaal Centrum Alternatieven voor Dierproeven (tel. 030 - 253 21 63)

O elders, n.l.:

●zo nee; waarom niet:

Het cluster [REDACTED] heeft een jarenlange expertise op gebied van artrose en artritis onderzoek en de daarbij gebruikte diersmodellen. Voor het huidige experiment dat juist bedoeld is om additionele metingen te implementeren in *in vivo* artrose modellen in de rat, en is een alternatief dus niet beschikbaar.

ANDERE ASPEKTEN

23. Welke andere dan de hiervoor vermelde aspecten zijn naar uw mening voor de toetsing van deze dierproef door de DEC van belang?

Hier kan alle informatie aan de orde gesteld worden die u verder nog onder de aandacht van de Commissie wenst te brengen.

nvt

24. Geef hieronder, indien van toepassing, toelichting op de door u in dit aanmeldformulier gebruikte afkortingen:

OA = artrose

[REDACTED]

MX = meniscectomy

ACL = anterior cruciate ligament transection

onderzoeker

Management

datum:

datum:

Na behandeling ontvangt de vergunninghouder het advies van de DEC TNO. Kopie van dit advies gaat tevens naar management en onderzoeker.