

Datum ontvangst DEC: 10 maart 2010
12 oktober 2010 final

2010 - 10^d
afstemmingsuitzoek
DEC nr: 2930

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:

ALGEMEEN

1. Onderzoeksplan

Titel: Het opzetten van een nierschade model in de rat.

1.1. studienummer: 031.14900

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

Biomedical materials (BMM) programma DESIRE (DEvice for Smart Intervention in Renal rEpair)

2. Verantwoordelijk onderzoeker (ex art. 9 WOD): [Redacted]

E-mail adres onderzoeker: [Redacted]

Telefonisch bereikbaar tijdens DEC-vergadering onder telnr: [Redacted]

Medewerkers (ex art. 9 WOD/ ex art. 12 WOD): [Redacted], [Redacted]
[Redacted]

Externe samenwerking (indien van toepassing):

3. Geplande aanvangsdatum onderzoeksplan: 01-04-2010

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

[Redacted])

Geplande duur van de onderzoeksplan: 6 maanden

Locatie waar dieren worden gehouden: TNO [Redacted]

4. Codenummers volgens VWA-registratie:

Groep	< kolommen >												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1-8	1	02	1	74	03	1	1	1	12	4	4	3	1

RELEVANTIE

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

A) Het opzetten van een nierschade model (ischemie re-perfusie) in de rat.

B) Het effect van een anti-fibroticum in dit nierschade model in rat.

Binnen het DESIRE consortium (DEvice for Smart Intervention in Renal REpair) is één van de rollen van TNO het optimaliseren en valideren van de nierschade en nierfibrose modellen zodat het te ontwikkelen device getest kan worden. Hierbij zal onderzocht worden welke processen een rol spelen in deze modellen, hoe groot het therapeutische window voor modulatie van de modellen is (mbv demonstrator compounds), zullen protocollen voor profylactisch en therapeutisch doseren worden ontwikkeld en zal een uitgebreide power analyse gedaan worden om met minimale aantallen dieren een maximale gevoeligheid te bereiken.

Ad A) Als start wordt in deze aanvraag een model voor nierschade binnen TNO opgezet: het ischemie reperfusie model. Dit model wordt regelmatig gebruikt bij partners in het consortium (afdeling RUG afdeling [REDACTED]) en is intussen gedemonstreerd. In dit model wordt aan 1 kant de nier vene/aterie afgeklemd waardoor zich na enkele uren schade in de nier ontwikkelt. Hierbij zullen de methoden voor analyse opgezet worden en zullen de processen die in het ontwikkelen van nier ontsteking een rol spelen op verschillende tijdstippen worden onderzocht en zal bepaald worden welk tijdstip optimaal is voor modulatie mbv een ontstekingsremmer.

Ad B) Hierin zal onderzocht worden hoe het model gemoduleerd wordt door een anti-inflammaticum dat in andere ontstekings modellen wordt toegepast.

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

Na het ontstaan van nierschade en onafhankelijk van de soort schade, ontstaat altijd ontsteking. Slechte resolutie van de acute ontsteking en progressie naar chronische ontsteking kan vervolgens leiden tot de ontwikkeling van nier fibrose, die dan leidt naar chronische nierziekte en chronisch nierfalen (CRF). In de huidige, snel verouderende samenleving, wordt een wereldwijde toename van chronische nierziekte en end-stage renal disease (ESRD) verwacht, waarbij oa de stijgende prevalentie van obesitas en diabetes mellitus type II een grote rol spelen. De huidige therapieën voor ESRD richten zich voornamelijk op dialyse met als uiterste redmiddel niertransplantatie. Deze therapieën zijn levensreddend maar geven grote problemen op de lange termijn. Het is daarom van groot belang dat er nieuwe therapieën worden ontwikkeld die chronische nierziekte kunnen voorkomen en herstel van nierfunctie kunnen bevorderen.

Het is daarom de ambitie van het onder het Biomedical materials programma opgerichte DESIRE consortium om een "DEvice for Smart Intervention in Renal REpair (DESIRE) te ontwikkelen, een innovatieve therapeutische strategie voor de intrarenale modulatie van ontsteking.

DESIRE zal bestaan uit een bio-afbreekbare co-polyester drager, met duidelijke gedefinieerde eigenschappen en geladen met een eiwitcompound met anti-ontstekings en anti-fibrotische eigenschappen (rhIL-10) of een anti-ontsteking low molecular weight compound (Rho kinase

inhibitor Y27632; RhoKi). DESIRE zal worden geïmplanteerd onder het nierkapsel en zal daar lokaal de therapeutische stof met een gecontroleerd release profiel vrijgeven. Hierdoor zullen maximale therapeutische effecten bereikt worden met minimale systemische bij-effecten.

6.a.2 Economisch belang

Het chronische karakter van de ziekte en de toenemende mate van invaliditeit/morbiditeit bij progressie brengt met zich mee dat deze categorie patiënten in toenemende mate arbeidsongeschikt worden en een beroep moeten doen op uitkeringen (indirecte kosten). Tevens zijn de directe kosten van fibrose (gezondheidszorg) aanzienlijk. Geneesmiddelen tegen nierontsteking zullen leiden tot een aanzienlijke kostenbesparing en verhoging van de arbeidsparticipatie.

6.a.3 Milieu belang

n.v.t.

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

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

6.b Wetenschappelijk belang:

In de laatste tien jaar is er binnen TNO Kwaliteit van Leven grote expertise opgebouwd op het gebied van aandoeningen aan de extracellulaire matrix / bindweefsels, waaronder fibrose. Dit onderzoek is gericht op het verkrijgen van inzichten in ziekteprocessen (therapie targets), het ontwikkelen van biomarkers voor deze aandoeningen en het testen van nieuwe therapeutica. De huidige studie is onderdeel van het eerste aspect: het verkrijgen van inzicht in het ziekte verloop van het nier schade proces. Ook wordt er een anti-inflammaticum in dit model getest.

7. Is of wordt de wetenschappelijke kwaliteit van dit onderzoeksplan of het totale onderzoeksproject beoordeeld? ja

Zo ja, door welk daartoe aangewezen college, in welke context en met welk resultaat?

Het voorstel is getoetst op wetenschappelijke kwaliteit tijdens het projectleiders overleg binnen de divisie en in samenspraak met [REDACTED] en [REDACTED] van de Rijks Universiteit Groningen.

Zo nee, waarom niet?

n.v.t.

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 standaardstudieplan voor de nadere uitwerking.

Opzetten van nierschade model (ischemie reperfusie) in de rat.

Nierschade wordt geïnduceerd door de niervene en aterie beiden voor 45 minuten af te klemmen.

Inductie van nierschade:

De rat wordt onder verdoving gebracht met behulp van isofluraan anesthesie. Rectaal krijgt de rat een sensor ingebracht die de lichaamstemperatuur van het dier registreert. De rat ligt op een homeothermisch warmte matje die verwarmd is op de lichaamstemperatuur van het dier. Mocht de rat tijdens de operatie afkoelen dan wordt via de rectale sensor de temperatuur van het dier op peil gehouden door het warmte matje extra te verwarmen.

Pre-operatief krijgt de rat subcutaan 0.01 mg/kg Temgesic als pijnstilling ingespoten.

De huid van de buik wordt geheel kaal geschoren en gedesinfecteerd met chloorhexidine.

Over het midden van de buik wordt een incisie van 4-5 cm gemaakt in de huid. Het buikvlies wordt opengesneden over de linea alba tot aan het sternum.

De darmen worden voorzichtig uit de buikholte gehaald en in plastic gepakt, hierop wordt 1 ml warm 0.9% NaCl gedruppeld tegen het uitdrogen van de darmen.

Nu de darmen weg zijn is de linkernier zichtbaar geworden. Het wondgebied wordt opengehouden met een buikspreider.

De nier vene/arterie worden onder de microscoop voorzichtig vrij geprepareerd van lichaamsvet met een vaatspreider. Als er met de pincet onder de vene/arterie kan worden gestoken, wordt deze afgeklemd met een anorisma klem. De darmen worden weer in de buikholte terug geplaatst. 3 ml 0.9% warm NaCl wordt in de buikholte gespoten, met een paar hechtsteekjes wordt het buikvlies en de huid van de rat gehecht. De buikwond wordt met plastic ingepakt om uitdroging tegen te gaan. De rat blijft 45 minuten op het homeothermisch matje liggen, na 45 minuten wordt het anorisma klemmetje verwijderd en vindt er weer bloed doorstroming plaats van de nier. Het buikvlies wordt gehecht met oplosbaar hecht draad en de huid wordt gehecht met wondclips. sc krijgen de dieren nogmaals 1 ml warm fysiologisch zout. Post-operatief krijgen de dieren aan het einde van de dag en de volgende dag Temgesic als pijnbestrijding toegediend. De dieren worden in groepen van 2 gehuisvest.

Gavage: op dag 1 na de ischemie re-perfusie operatie wordt de behandeling met Dexamethason (1 mg/kg/d, gavagevolume: 10 ml/kg) gestart, 1 maal daags.

gewicht: de ratten worden 3 x per week gewogen.

Offeren: de ratten worden geofferd mbv CO₂ via hartpunctie zal 300-600 µl bloed worden afgenomen en worden de nieren geïsoleerd voor histologische analyse.

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

Trainingstraject IRI (groep 1):

De IRI operatie is een erg gecompliceerde operatie die voldoende oefening vereist.

Pas na voldoende oefening zullen de Studies A en B worden uitgevoerd.

Samen met de proefdierdeskundige is onderstaand trainingsschema (voor 2 personen) opgesteld, hiervoor zijn in totaal 20 ratten nodig.

trainings traject Ischemische reperfusie:

week 1	dag 1, n=2 dieren (1 uitvoeren, 1 meekijken) dag 2, n=2 dieren (1 uitvoeren, 1 meekijken) dag 3, n=2 dieren (1 uitvoeren, 1 meekijken)	oefenen met handelingen onder microscoop met dode rat/muis. oefenen met handelingen onder microscoop met dode rat/muis. oefenen met handelingen onder microscoop met dode rat/muis.
week 2	dag 1, n=2 dieren (1 uitvoeren, 1 meekijken) dag 2, n=2 dieren (1 uitvoeren, 1 meekijken) dag 3, n=2 dieren (1 uitvoeren, 1 meekijken)	oefenen alle handelingen onder microscoop met LEVENDE rat/muis, offeren na operatie oefenen alle handelingen onder microscoop met LEVENDE rat/muis, offeren na operatie oefenen alle handelingen onder microscoop met LEVENDE rat/muis, offeren na operatie
week 3	dag 1, n=2 dieren (1 uitvoeren, 1 meekijken) dag 2, n=2 dieren (1 uitvoeren, 1 meekijken) dag 3, n=2 dieren (1 uitvoeren, 1 meekijken)	oefenen alle handelingen onder microscoop met LEVENDE rat/muis, offeren na operatie oefenen alle handelingen onder microscoop met LEVENDE rat/muis, offeren na operatie oefenen alle handelingen onder microscoop met LEVENDE rat/muis, offeren na operatie
week 4	n=?	meekijken van een deskundige of handelingen optimaal zijn (iemand uit groningen / dierenarts TNO) hierna oefenen alle handelingen onder microscoop met LEVENDE rat/muis, offeren na operatie
week 5	n=4	gehele operatie uitvoeren en rat vervolgen gedurende 1 week.
week 6		offeren ratten van week 5

Studie A : Opzetten van nierschade model :

GROEP	INDUCTIE	BIOTECHNISCHE HANDELING(EN)	Offeren	N	SEXE	DIERSOORT
1 Training	Oefentraject IRI operatie # voor 2 personen	-inductie nierschade : *Anesthesie (isofluraan)	Zie schema trainings traject #	20	♂♂	Rat: F344
2	ischemie re-perfusie	*tijdelijk afbinden van nier vene+arterie (45 minuten)	T=7 dagen	6	♂♂	Rat: F344
3	ischemie re-perfusie	-rat wegen	T=14 dagen	6	♂♂	Rat: F344
4	ischemie re-perfusie	-Opofferen op dag t= 7,14,21, 28 dagen	T=21 dagen	6	♂♂	Rat: F344
5	ischemie re-perfusie	Isolatie bloed en nieren.	T=28 dagen	6	♂♂	Rat: F344

Na afloop van studie A zal in overleg met de DEC besloten worden met welk tijdstip studie B zal worden uitgevoerd.

Study B)

Het effect van een anti-inflammaticum in het nierschade model in de rat.

Na histologische en biochemische analyse van het nierweefsel uit Studie A kan geconcludeerd worden welk tijdstip de beste nierschade geeft. Met dit tijdstip wordt studie B gestart (t=x dagen).

GROEP	INDUCTIE	BIOTECHNISCHE HANDELING(EN)	Offeren	n	SEXE	DIERSOORT	BEHANDELING
6	ischemie re- perfusie	-inductie nier schade: *Anesthesie (isofluraan)	T=x dagen	10-15	♂♂	Rat: F344	vehicle
7	ischemie re- perfusie	**tijdelijk afbinden van nier arterie (45 minuten)	T=x dagen	10-15	♂♂	Rat: F344	Oraal Dexamethasone
		rat wegen -gavage: dexamethasone -Opofferen op dag t= XX dagen Isolatie bloed en nieren.					

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.
Study A) Voor dit deel van de studie zullen 6 ratten per groep worden gebruikt. Dit is voldoende om de spreiding van de gemiddelde nierschade effecten in de modellen te kunnen beoordelen. Hierbij is rekening gehouden dat 1 rat per groep voortijdig uit het experiment moet worden genomen op grond van excessief gewichtsverlies of door inwendige schade ontstaan na de ischemie reperfusie procedure.

Study B) Aan de hand van de resultaten van studie deel A) zal een poweranalyse gedaan worden om tot een betere schatting van het benodigde aantal dieren gemaakt worden. Om een schatting van het aantal dieren nodig voor dit deel van de studie te kunnen maken zijn we hier uitgegaan van de spreiding zoals we die kennen uit het longfibrose model. Hierbij zijn 15 dieren per groep nodig om een modulatie van 40% te kunnen bepalen. Onze verwachting is dat de spreiding in dit model lager zal zijn en dat het benodigde aantal dieren lager dan 15 zal uitkomen. Het daadwerkelijke aantal dieren zal voor start van de studie met de DEC worden gecommuniceerd.

PROEFDIEREN, HUISVESTING EN VERZORGING

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

Volwassen mannelijke F344 ratten (200-250gr). Met deze stam hebben ze in Groningen in de loop van de jaren de nodige ervaring opgebouwd met het ontwikkelen van het ischemie re-perfusie model.

Deze stam is het meest gevoelig gebleken voor de ontwikkeling van nier schade . (Kidney International 2005, 68:2572-2581)

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
- ☐ anders, n.l.:

15. Hoe worden de dieren gehuisvest en verzorgd?

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

- Type 4 bak: 2 ratten (3 of 4 bakken per groep) per IV bak, met koker als kooiverrijking.
- Voedsel: ad libitum (Fokvoer, Ssniff, Hope Farms). Het voedsel zal ook in de bak zelf worden gelegd (en op de bovenkant van de kooi) zodat verzwakte dieren toch gemakkelijk bij het eten kunnen. .
- Water (pH 2.79) 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	20	Oefenoperaties IRI	60', 1x	3
2-7	54	ischemie re-perfusie onder narcose	45', 1x	3
2-7	54	Ip injectie pijnstillers	3 x	2
6-7	54	Gavage (1 x daags)	Maximaal 21 x	2
2-7	54	Dieren wegen	Maximaal 12x	1
2-7	54	nier schade/ontsteking ontwikkeling	1-28 d	3
1-7	74	Euthanasie dmv CO2	1x	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 behandelings-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
1-7	74	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.

De Ischemie reperfusie operatie wordt uitgevoerd onder isofluraan narcose. Pre-en Post-operatief krijgen de dieren Temgesic als pijnbestrijding toegediend.

Indien nodig zal voedsel in de bakken zelf worden geplaatst, zodat verzwakte dieren makkelijker voedsel tot zich kunnen nemen.

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

Dieren worden dagelijks beoordeeld op algehele conditie, activiteit, ademhaling en vacht. De dieren zullen uit de proef genomen worden indien er duidelijke tekenen van onverwacht ernstig ongerief (niet meer eten/ademhalingsproblemen/doffe smerige vacht etc.) optreden.

Dieren zullen worden geëuthanaseert indien een of meerdere van onderstaande criteria optreden tijdens het experiment:

- Aanzienlijke afname van het lichaamsgewicht vastgesteld door het zichtbaar worden van ribben of ruggengraat (2);
- Abnormaal gedrag, bijvoorbeeld:
 - # Benauwdheid/hijgen (1)
 - # Salivatie (speekselvloed) (1)
 - # Niet reageren op prikkels (2)
 - # Aanhoudend (t)rillen (tremors) (2)
 - # Aanhoudend stuip trekken (convulsies) (2)
 - # Zelfverminking (2)
- Pilo erectie (opzetten van de haren) (1)
- Abnormale houding (1)

Bij een score of combinatie van scores gelijk aan of groter dan 2 dient het dier te worden euthanaseert.

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.

Door het vrij prepareren en afklemmen van de nier arterie/vene is er een kans dat er inwendige schade of bloedingen aan andere organen dan de nier ontstaat. Het ontstaan van nierontsteking in een van de nieren hoeft geen fysische gevolgen te hebben voor het dier omdat de functie goed opgevangen kan worden door de andere gezonde nier.

De nierontsteking die ontstaat door de ischemie reperfusie kan mogelijk zorgen voor een geleidelijke afname in lichaamsgewicht vanaf dag 7 tot 28.

ALTERNATIEVEN

21. Welke alternatieve methoden (in termen van vervanging, vermindering, verfijning), zowel *in vivo* als *in vitro*, bestaan voor deze dierproef? Er zijn geen geschikte alternatieven voor deze *in vivo* ziektemodellen voorhanden vanwege complexiteit van opeenvolgende weefselreacties (migratie-proliferatie-inflammatie-lokale differentiatie en homing) op een fibrotische trigger.

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:

We hebben al veel data verzameld in humaan materiaal en met cel cultures. De voorgestelde experimenten zijn ervoor bedoeld om een nieuw fibrose model en een fibrose remmer te testen. Dit is niet mogelijk met *in vitro* modellen, vanwege het grote aantal factoren die een rol spelen bij de ontwikkeling van fibrose (zoals inflammatoire aspecten, bijv. influx van monocyt/en/macrofagen/mest cellen, afgifte van cytokines gebonden aan de extracellulaire matrix).

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

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.:

x zo nee; waarom niet:

(1) Bekendheid uit de literatuur dat deze proeven niet met geïsoleerde cellen (bijv. fibroblasten) kunnen worden uitgevoerd i.v.m. samenspel van verschillende cel (release groeifactoren, cel/cel interacties, cel/matrix interacties)

(2) reeds eerder Art. 14 functionaris geraadpleegd bij eerdere DEC aanvraag

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.

We willen de nierschade modellen als deze zijn gevalideerd opnemen in het nieuwe STRONG portefeuille van TNO [redacted], dit vanwege de toenemende interesse van farmaceutische bedrijven in de aandoening nierfibrose/schade.

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

IRI: ischemie re-perfusie onder narcose

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.