



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.zbo-ccd.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 11500															
		<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen															
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table border="1"><tr><td>Naam instelling of organisatie</td><td>UMC Utrecht</td></tr><tr><td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td><td>[REDACTED]</td></tr><tr><td>KvK-nummer</td><td>3 0 2 4 4 1 9 7</td></tr></table>	Naam instelling of organisatie	UMC Utrecht	Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]	KvK-nummer	3 0 2 4 4 1 9 7									
Naam instelling of organisatie	UMC Utrecht																
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]																
KvK-nummer	3 0 2 4 4 1 9 7																
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>	<table border="1"><tr><td>Straat en huisnummer</td><td>Bolognalaan 50</td></tr><tr><td>Postbus</td><td>12007</td></tr><tr><td>Postcode en plaats</td><td>3501AA Utrecht</td></tr><tr><td>IBAN</td><td>NL27INGB0000425267</td></tr><tr><td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td><td>Universiteit Utrecht</td></tr></table>	Straat en huisnummer	Bolognalaan 50	Postbus	12007	Postcode en plaats	3501AA Utrecht	IBAN	NL27INGB0000425267	Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Utrecht					
Straat en huisnummer	Bolognalaan 50																
Postbus	12007																
Postcode en plaats	3501AA Utrecht																
IBAN	NL27INGB0000425267																
Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Utrecht																
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<table border="1"><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td>[REDACTED]</td><td><input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td>associate professor</td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td>Keel-, Neus-, en Oorheelkunde</td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td>0 8 8 [REDACTED]</td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td>[REDACTED]@umcutrecht.nl</td><td></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.	Functie	associate professor		Afdeling	Keel-, Neus-, en Oorheelkunde		Telefoonnummer	0 8 8 [REDACTED]		E-mailadres	[REDACTED]@umcutrecht.nl	
(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.															
Functie	associate professor																
Afdeling	Keel-, Neus-, en Oorheelkunde																
Telefoonnummer	0 8 8 [REDACTED]																
E-mailadres	[REDACTED]@umcutrecht.nl																
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table border="1"><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td>[REDACTED]</td><td><input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td>assistent professor</td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td>Keel-, Neus-, en Oorheelkunde</td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td>0 8 8 [REDACTED]</td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td>[REDACTED]@umcutrecht.nl</td><td></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.	Functie	assistent professor		Afdeling	Keel-, Neus-, en Oorheelkunde		Telefoonnummer	0 8 8 [REDACTED]		E-mailadres	[REDACTED]@umcutrecht.nl	
(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.															
Functie	assistent professor																
Afdeling	Keel-, Neus-, en Oorheelkunde																
Telefoonnummer	0 8 8 [REDACTED]																
E-mailadres	[REDACTED]@umcutrecht.nl																

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 741,00 Lege
 Wijziging € 468,00 Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
 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.
- Via een eenmalige incasso
 Na ontvangst van de factuur

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 1.6). De ondergetekende verklaart:

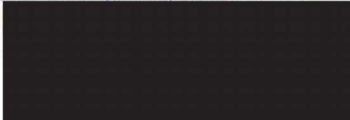
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan 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 

Functie 

Plaats Utrecht

Datum 02 - 03 - 2015

Handtekening 



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.zbo-ccd.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 'hogere onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Achtergrond:

De meeste gevallen van doofheid worden veroorzaakt door afwezigheid van cochleaire haarcellen. In die gevallen kan de gehoorzenuw elektrisch gestimuleerd worden middels een cochleair implantaat (CI), waardoor dove mensen weer kunnen horen. Het succes van deze techniek is onder meer afhankelijk van de staat van de gehoorzenuw; progressieve degeneratie van de zenuw als gevolg van haarcelverlies heeft negatieve gevolgen voor de signaaloverdracht naar de hersenen.

Recente bevindingen:

In eerder onderzoek bij cavia's is aangetoond dat behandeling van de gehoorzenuw met de neurotrofine brain-derived neurotrophic factor (BDNF) de degeneratie van de gehoorzenuw tegengaat (Staecker et al. 1996; Agterberg et al. 2009; Leake et al. 2011). Daarnaast is aangetoond dat degeneratie van de gehoorzenuw gepaard gaat met veranderingen in het functioneren van de zenuw bij elektrische stimulatie (Prado-Guitierrez et al. 2006; Ramekers et al. 2014a, 2015), en dat behandeling met BDNF - naast fysieke degeneratie - ook deze functionele aspecten van de degeneratie tegengaat (Ramekers et al. 2014b). De combinatie van behoud van weefsel en van functie maakt dat BDNF-behandeling een nuttige klinische toepassing bij dove mensen met een CI kan zijn. Deze resultaten zijn echter behaald in dove proefdieren, waarbij niet - zoals bij dove mensen met een CI wel het geval is - een groot gedeelte van de dag de gehoorzenuw elektrisch gestimuleerd wordt. Bovendien is de methode waarmee BDNF toegediend is in deze dierexperimentele studies klinisch bij dove mensen niet haalbaar.

Aanleiding voor dit project:

In bovengenoemde studies met BDNF (Staecker et al. 1996; Agterberg et al. 2009; Leake et al. 2011; Ramekers et al. 2014b) is de BDNF toegediend met behulp van een subcutaan geplaatste osmotische pomp. Deze methode is echter niet erg geschikt voor mogelijke klinische toepassing, omdat de kans op infectie relatief groot is en verwijderen of vervangen van de pomp een operatieve ingreep betekent. In twee recente studies hebben we daarom laten zien dat eenvoudige toediening van BDNF op het ronde venster van de cochlea ook een beschermend effect heeft op de gehoorzenuw (Havenith et al. 2011, 2014). Doordat deze lokale toediening gebeurt door middel van oplosbare gelfoam, hoeft er na de behandeling niets operatief verwijderd te worden. Het beschermende effect van BDNF via het ronde venster is echter kleiner dan met een osmotische pomp, zodat verbetering van deze methode gewenst is.

Een belangrijke toevoeging in het huidige projectvoorstel op voorgaand onderzoek is chronische elektrische stimulatie van de gehoorzenuw in dove cavia's, al dan niet in combinatie met BDNF-behandeling. In tegenstelling tot bij de cavia's in voorgaande studies, wordt de gehoorzenuw van dove mensen met een CI gedurende lange periodes continu elektrisch gestimuleerd, en deze stimulatie zou mogelijk beschermend kunnen werken. De literatuur is hierover niet eenduidig (bijvoorbeeld Shepherd et al. 2005; Agterberg et al. 2010); het is mogelijk dat chronische elektrische stimulatie enkel een beschermend effect heeft in combinatie met behandeling met neurotrofe factoren.

Een grondige analyse van de bestaande literatuur heeft aangetoond dat in geen enkele van de tien studies die gebruik hebben gemaakt van chronische elektrische stimulatie van de degenererende gehoorzenuw rapporteren over de functionele staat van de zenuw. In alle gevallen staat het aantal overlevende zenuwcellen relatief t.o.v. het niet-gestimuleerde oor centraal, en waar elektrofysiologische metingen worden gerapporteerd betreft het voornamelijk gehoordrempels indirect bepaald op het niveau van de hersenstam. De meerwaarde van onze methode is dat we door gebruik te maken van een geavanceerd humaan cochleair implantaat met hoge temporele resolutie de respons direct van de gehoorzenuw kunnen meten.

Referenties:

Agterberg MJH, Versnel H, De Groot JCMJ, Van den Broek M, Klis SFL (2010) Chronic electrical stimulation does not prevent spiral ganglion cell degeneration in deafened guinea pigs. *Hear Res* 269:169-79.

Agterberg MJH, Versnel H, Van Dijk LM, De Groot JCMJ, Klis SFL (2009) Enhanced survival of spiral ganglion cells after cessation of treatment with brain-derived neurotrophic factor in deafened guinea pigs. *J Assoc Res Otolaryngol* 10:355-367.

Havenith S, Versnel H, Agterberg MJH, De Groot JCMJ, Sedee RJ, Grolman W, Klis SFL (2011) Spiral ganglion cell survival after round window membrane application of brain-derived neurotrophic factor using gelfoam as carrier. *Hear Res* 272:168-177.

Havenith S, Versnel H, Klis SFL, Grolman W (2014) Local delivery of brain-derived neurotrophic factor on the perforated round window membrane in guinea pigs: a possible clinical application. *Otol Neurotol*, doi: 10.1097/MAO.0000000000000634.

Leake PA, Hradek GT, Hetherington AM, Stakhovskaya O (2011) Brain-derived neurotrophic factor promotes cochlear spiral ganglion cell survival and function in deafened, developing cats. *J Comp Neurol* 519:1526-1545.

Prado-Guitierrez P, Fewster LM, Heasman JM, McKay CM, Shepherd RK (2006) Effect of interphase gap and pulse duration on electrically evoked potentials is correlated with auditory nerve survival. *Hear Res* 215:47-55.

Ramekers D, Versnel H, Strahl SB, Klis SFL, Grolman W (2014b) Temporary neurotrophic treatment prevents deafness-induced auditory nerve degeneration and preserves functionality (Chapter). In: Ramekers D, Assessment and Preservation of Auditory Nerve Integrity in the Deafened Guinea Pig (PhD thesis).

Ramekers D, Versnel H, Strahl SB, Klis SFL, Grolman W (2015) Recovery characteristics of the electrically stimulated auditory nerve in deafened guinea pigs: relation to neuronal status. *Hear Res* 31:12-24.

Ramekers D, Versnel H, Strahl SB, Smeets EM, Klis SFL, Grolman W (2014a) Auditory-nerve responses to varied inter-phase gap and phase duration of the electric pulse stimulus as predictors for neuronal degeneration. *J Assoc Res Otolaryngol* 15:187-202.

Shepherd RK, Coco A, Epp SB, Crook JM (2005) Chronic depolarization enhances the trophic effects of brain-derived neurotrophic factor in rescuing auditory neurons following a sensorineural hearing loss. *J Comp Neurol* 486:145-158.

Staecker H, Kopke R, Malgrange B, Lefebvre P, Van de Water TR (1996) NT-3 and/or BDNF therapy prevents loss of auditory neurons following loss of hair cells. *Neuroreport* 7:889-894.

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?

Het uiteindelijke doel van dit project is om uit te zoeken of een behandeling met BDNF zinvol kan zijn voor dove mensen die een CI krijgen. Zinvol betekent hierbij dat een klinisch haalbare toediening van BDNF effectief is, en tot betere hoorresultaten voor mensen met een CI leidt.

Om dit hoofddoel te bereiken hebben de afzonderlijke dierproeven binnen dit project tot doel om:

- 1) bij geïnduceerde doofheid het effect van chronische elektrische stimulatie te bepalen op (het behoud van) functionaliteit, en tevens op de fysieke gesteldheid van de gehoorzenuw;
- 2) bij geïnduceerde doofheid het gecombineerde effect van chronische elektrische stimulatie en de toediening van neurotrofe factoren te bepalen op (het behoud van) functionaliteit, en tevens op het fysieke behoud van de gehoorzenuw;
- 3) een toedieningsmethode voor neurotrofe factoren te testen die effectief, maar ook eenvoudig en veilig is om klinisch bij patiënten te kunnen toepassen.

Om de volgende redenen schatten we in dat de haalbaarheid van het project hoog is:

- 1) na tal van studies met cavia's is in onze onderzoeksgroep ruime ervaring met de chirurgische procedures, met elektrofysiologische metingen en met histologische analyse (zie referenties bij punt 3.1 hierboven);
- 2) de ontwikkeling van de implanteerbare stimulators is bijna voltooid - experimenten met implantatie in ratten voor stimulatie van de nervus vagus hebben goede resultaten gegeven;
- 3) de financiering voor het project is rond.

3.3 Belang

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

Het maatschappelijke belang van deze doelstellingen is dat dit project kan leiden tot een behandeling tegen degeneratie van de gehoorzenuw, waar vooralsnog geen behandeling voor is. Voor CI-gebruikers (doven en ernstig slechthorenden) is het tegengaan van deze degeneratie van groot belang. Naar schatting 5,3% van de wereldbevolking heeft ernstige beperkingen als gevolg van gehoorverlies. Eén op de duizend kinderen wordt doof geboren, en een groot gedeelte van hen krijgt een CI. In het UMC Utrecht betreft ongeveer een kwart van de implantaties doofgeboren kinderen; de overige implantaties vinden plaats bij volwassenen met verworven doof- of slechthorendheid.

In wetenschappelijke zin zouden bepaalde bevindingen voorts van belang kunnen zijn voor onderzoek naar andere aandoeningen waarbij degeneratie van zenuwweefsel een rol speelt.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

- 1) Allereerst zal de chronische elektrische stimulatie opgezet worden. Hiertoe zal een implanteerbare stimulator gebruikt worden, die voor dit specifieke doel aangepast moet worden (m.b.t. stimulatieprotocollen, afmetingen, batterijduur, transcutane infraroodcommunicatie).

2) Als goed functioneren van de stimulator "in vitro" bevestigd is, zal een eerste dierproef (volnummer 1) uit moeten wijzen of chronische elektrische stimulatie op zichzelf effect heeft op fysiek behoud (m.b.v. histologie) of functioneel behoud (m.b.v. elektrofysiologie) van de gehoorzenuw in doorgemaakte cavia's. Deze proef zal tevens fungeren als in vivo test voor de implanteerbare stimulator. Het functioneren van de stimulator kan in de tijd gemeten worden, zodat wanneer vastgesteld kan worden dat deze gedurende de gehele experimentele periode goed heeft gefunctioneerd, tevens vastgesteld kan worden dat de gehele proef goed verlopen is.

3) Wanneer deze studie succesvol afgerond is - maar ongeacht de effectgrootte van chronische elektrische stimulatie - zal een tweede dierproef (volnummer 2) uit moeten wijzen of het partieel beschermende effect van BDNF-toediening op het ronde venster van de cochlea versterkt kan worden door chronisch elektrische stimulatie. In deze proef zal ook de effectiviteit van de klinisch haalbare toepassingsmethode geëvalueerd worden.

In totaal, over beide dierproeven, vragen we $2 \times 20 = 40$ cavia's aan voor modeloptimalisatie en voor het opvangen van uitval. Dit is een redelijk ruime schatting en indien niet al deze 40 dieren nodig blijken te zijn zullen ze niet alle gebruikt worden."

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

In elk van de onder punt 3.4.1 genoemde dierproeven zal gebruikt worden gemaakt van een caviamodel van verworven perceptief gehoorverlies. Dit houdt in dat cavia's zullen worden behandeld met kanamycine en furosemide, waardoor de cochleaire haarcellen vernietigd worden.

Dierproef 1: In deze proef zullen cavia's eerst geïmplanteerd worden met een CI en een subcutaan geplaatste stimulator. Deze dieren worden daarna doorgemaakt en de gehoorzenuw zal elektrisch gestimuleerd worden gedurende enkele weken alvorens ze te euthanaseren.

Dierproef 2: In deze proef zullen cavia's eerst doorgemaakt worden. Twee weken later (op het moment van subtiële maar significante degeneratie van de zenuw) worden ze geïmplanteerd met een CI en een subcutaan geplaatste stimulator. Daarbij zal de neurotrofe factor BDNF op het ronde venster van de cochlea geplaatst worden. De gehoorzenuw zal elektrisch gestimuleerd worden gedurende enkele weken alvorens ze te euthanaseren.

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.

De dierproeven zullen uitgevoerd worden in de volgorde zoals beschreven onder punt 3.4.1. Chronische elektrische stimulatie in combinatie met BDNF-behandeling zal pas toegepast worden wanneer zeker is dat de stimulatie m.b.v. de implanteerbare stimulators gewerkt heeft. Dit kan eenvoudig getest worden doordat de output van de stimulators teruggemeten kan worden vanuit de connector van de elektrode array. Een succesvolle werking van de elektrische stimulatie betekent echter niet noodzakelijk dat de elektrische stimulatie een aantoonbaar effect op fysiek of functioneel behoud van de gehoorzenuw heeft gehad - het is enkel vereist dat er gedurende de beoogde tijd elektrisch gestimuleerd is.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Chronische elektrische stimulatie (CES)
2	Chronische elektrische stimulatie en brain-derived neurotrophic factor (CES+BDNF)
3	
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.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 11500
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. UMC Utrecht
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|---|
| 1 | Chronische elektrische stimulatie (CES) |

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.

Drie experimentele groepen cavia's zullen worden gebruikt. Alle cavia's zullen worden doofgemaakt (diermodel van verworven perceptief gehoorverlies) ongeveer vier weken nadat ze een cochleair implantaat hebben gekregen. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat vier weken na cochleaire implantatie de elektrofysiologische metingen gestabiliseerd zijn (Ramekers et al. 2014b), zodat we aan kunnen nemen dat de gehoorsensatie opgewekt door chronische elektrische stimulatie na deze tijd ook redelijk stabiel zal zijn. Afhankelijk van de experimentele groep zullen de dieren een tot vijf weken na het doofmaken chronische elektrische stimulatie krijgen gedurende 12 uur per dag, en 2 of 6 weken lang. Er is gekozen voor 12 uur stimulatie per dag omdat dit ongeveer overeenkomt met de tijd waarin een CI-gebruiker het CI aan heeft staan. De totale periode waarin chronische elektrische stimulatie plaatsvindt (2 tot 6

weken) is gekozen omdat in dit tijdsbestek zonder behandeling duidelijk structureel en functioneel verval van de gehoorzenuw observeerbaar is (Ramekers et al. 2014a). Wekelijks vanaf het moment van doofmaken zullen elektrofyysiologische metingen gedaan worden om de functionele staat van de gehoorzenuw in de tijd te kunnen volgen. De primaire uitkomstmaten van deze elektrofyysiologische metingen zijn onder andere de amplitude, drempel en latentie van de elektrisch opgewekte samengestelde actiepotentiaal (electrically evoked compound action potential; eCAP) (Ramekers et al. 2014a, 2015). Aan het einde van de experimentele periode (tot 7 weken na doofmaken) zullen de dieren worden geëuthanaseerd en zullen beide cochlea's histologisch verwerkt worden. Analyse van de cochlea's zal onder andere bestaan uit kwantificatie van het aantal zenuwcellen (spirale ganglioncellen) en de morfologische beschrijving hiervan (grootte en vorm).

Referenties:

Ramekers D, Versnel H, Strahl SB, Klis SFL, Grolman W (2014b) Temporary neurotrophic treatment prevents deafness-induced auditory nerve degeneration and preserves functionality (Chapter). In: Ramekers D, Assessment and Preservation of Auditory Nerve Integrity in the Deafened Guinea Pig (PhD thesis).

Ramekers D, Versnel H, Strahl SB, Klis SFL, Grolman W (2015) Recovery characteristics of the electrically stimulated auditory nerve in deafened guinea pigs: relation to neuronal status. *Hear Res* 31:12-24.

Ramekers D, Versnel H, Strahl SB, Smeets EM, Klis SFL, Grolman W (2014a) Auditory-nerve responses to varied inter-phase gap and phase duration of the electric pulse stimulus as predictors for neuronal degeneration. *J Assoc Res Otolaryngol* 15:187-202.

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.

Onder algehele anesthesie wordt een elektrode array in de rechtercochlea geplaatst. De connector van deze array wordt m.b.v. tandartsceement op de schedel bevestigd, en hieraan wordt de stimulator gekoppeld, die daarna subcutaan bij de linkerschouder wordt geplaatst. Ongeveer vier weken later worden de dieren onder algehele anesthesie doofgemaakt. Hiertoe wordt subcutaan kanamycine toegediend en wordt de rechter vena jugularis externa gecannuleerd, waarin furosemide wordt geïnjecteerd. Dit is een standaard methode van doofmaken die effectief de cochleaire haarcellen vernietigt, zonder de haarcellen van het evenwichtsorgaan te beschadigen (Versnel et al. 2007; Bremer et al. 2012). Vanaf het moment van doofmaken worden wekelijks elektrofyysiologische metingen gedaan in sessies van 30-60 minuten per keer, middels koppeling van de elektrode-connector aan een humaan cochleair implantaat. Vanaf de eerste week na het moment van doofmaken zal 12 uur per dag, 6 dagen per week de gehoorzenuw elektrisch gestimuleerd worden via de subcutaan geplaatste stimulator. Doordat de stimulator onderhuids geïmplanteerd is, kunnen de dieren vrij rondlopen in hun kooi en hoeven ze niet solitair gehuisvest te worden gedurende deze periode.

Referenties:

Bremer HG, de Groot JCMJ, Versnel H, Klis SFL (2012). Combined administration of kanamycin and furosemide does not result in loss of vestibular function in guinea pigs. *Audiol. Neurootol.* 17:25-38.

Versnel H, Agterberg MJH, de Groot JCMJ, Smoorenburg GF, Klis SFL (2007). Time course of cochlear electrophysiology and morphology after combined administration of kanamycin and furosemide. *Hear. Res.* 231:1-12.

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

De effectgrootte van chronische elektrische stimulatie op degeneratie van de gehoorzenuw is lastig in te schatten. In de literatuur zijn effecten veelal in combinatie met toediening van neurotrofe factoren gevonden, en deze zijn niet erg eenduidig. Bovendien zijn de effecten van elektrische stimulatie op functionaliteit van de zenuw niet goed bekend.

Een minimaal klinisch relevante effectgrootte zou ongeveer 20% zijn. Schattingen van standaarddeviaties van histologische en elektrofysiologische uitkomstmaten worden gebaseerd op eerdere studies. Op basis hiervan wordt het benodigde aantal dieren bepaald met een poweranalyse (power 90%, alpha 0.05). Hiermee komen we uit op tien dieren per groep als schatting van het benodigde aantal. Om zeker te kunnen zijn dat dit aantal per groep te verkrijgen, vragen we om toestemming voor in totaal 20 additionele dieren (zie ook punt B hieronder), die naar verwachting niet allemaal gebruikt zullen worden.

B. De dieren

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

- Cavia (Dunkin Hartley, Hsd Dh1: DH): in gehooronderzoek wordt de cavia veel gebruikt, wat vergelijking met de literatuur mogelijk maakt. Daarbij heeft de cavia een eenvoudig te bereiken binnenoer en is het frequentiebereik relatief laag (i.e., redelijk gelijk aan dat van de mens). Tot slot hebben we (om eerdergenoemde redenen) veel ervaring met operaties en elektrofysiologische metingen bij cavia's.

- Drie groepen:

Groep 1) een week na het doofmaken zal gedurende twee weken chronisch elektrisch gestimuleerd worden (overeenkomend met snelle implantatie bij dove mensen, op korte termijn);

Groep 2) vijf weken na het doofmaken zal gedurende twee weken chronisch elektrisch gestimuleerd worden (overeenkomend met uitgestelde implantatie bij mensen);

Groep 3) een week na het doofmaken zal gedurende 6 weken gestimuleerd worden (overeenkomend met snelle implantatie bij dove mensen, op lange termijn).

- Er is geen controlegroep nodig, omdat het linkeroor van elk dier de negatieve controle is voor het gestimuleerde rechteroor.

- Niet genetisch gemodificeerd.

- Immunocompetent.

- In totaal denken we ongeveer 50 cavia's nodig te hebben: 10 dieren per groep en 20 voor het optimaliseren van het model (ongeveer 8) en voor het opvangen van uitval (ongeveer 12). Onder uitval verstaan we incidentele gevallen zoals bijvoorbeeld het niet bereiken van het beoogde gehoorverlies na doofmaken, infectie na implantatie, dysfunctie van de elektrode array of van de stimulator, en het uit de cochlea groeien van de elektrode array, en complicaties bij de relatief complexe operaties.

- We willen jong-volwassen vrouwelijke cavia's gebruiken van +/- 4 weken oud (+/- 300 gram). Dit omdat op jongere leeftijd minimale "natuurlijke" schade aan het gehoor is (uniformiteit) en omdat het ototoxische effect van kanamycine en furosemide op latere leeftijd minder groot is.

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.

Door de dieren chronisch te implanteren, kunnen effecten van degeneratie over de tijd gevolgd worden. Hierdoor is het aantal groepen beperkt. Daarnaast kunnen de linkerochlea's als negatieve controles dienen aangezien deze ook hun haarcellen verliezen (doofmaken gebeurt systemisch) en elektrische stimulatie alleen rechts plaatsvindt. Voorts is ervoor gekozen om geen normaalhoerende controlegroep te gebruiken, aangezien het effect van chronische elektrische stimulatie van haarcellen onduidelijk is, en dit niet tot de vraagstelling behoort. Vergelijking met functie en aantallen zenuwcellen in de gezonde situatie zal gebeuren met de data van normaalhoerende controles uit voorgaande studies.

Omdat de stimulator onderhuids geplaatst wordt, kunnen de dieren gedurende de stimulatieperiode gezamenlijk gehuisvest worden. Dit zou niet mogelijk zijn geweest als de stimulatie met een externe stimulator zou plaatsvinden via een kabel aangesloten op de geïmplanteerde elektrode array. Ook betekent dit dat de dieren tijdens de periodes van elektrische stimulatie vrij kunnen bewegen.

Er is gekozen voor enkel vrouwelijke cavia's omdat deze rustiger zijn. Wanneer de cavia's geïmplanteerd zijn bestaat de mogelijkheid dat mannetjes aan de externe delen van elkaars implantaten zitten. Door voor alleen vrouwelijke cavia's te kiezen kunnen we zeker zijn dat de dieren gezamenlijk gehuisvest kunnen worden.

Vervanging is niet mogelijk aangezien het gehele perifere gehoororgaan inclusief verbinding met de hersenstam (exclusief de haarcellen) via de gehoorzenuw intact en functioneel moet zijn. Natuurlijke degeneratie van dit gehele systeem kan niet ex vivo bestudeerd worden.

In dierexperimenteel onderzoek zijn slechts positieve effecten gevonden van chronische elektrische stimulatie in combinatie met BDNF. De functionaliteit van de gehoorzenuw is in deze gevallen (met of zonder BDNF) niet goed getest – de nadruk lag tot nog toe op histologische analyse. Voordat het effect van BDNF op een chronisch elektrisch gestimuleerde gehoorzenuw getest kan worden, moet eerst het effect van chronische elektrische stimulatie op het functioneren van de zenuw onderzocht worden.

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.

1) Alle chirurgische ingrepen worden onder algehele anesthesie gedaan; post-operatief wordt pijnstilling gegeven.

2) De chronische elektrische stimulatie van de gehoorzenuw zal voor elk dier een andere drempel hebben voor een gehoorsensatie, maar ook voor het gevoel van pijnlijk hard geluid. De implanteerbare stimulator zal daarom zo aangepast worden dat het stimulatie-niveau (stroomsterkte) na implantatie via infraroodcommunicatie op afstand (door de huid) aangepast kan worden. Enerzijds kunnen we dan met behulp van de wekelijkse elektrofysiologische metingen de stroomsterkte instellen op een niveau dat nog net een respons van de zenuw opwekt (ondergrens), en anderzijds kunnen we een maximaal comfortabele stroomsterkte ("maximum comfortable level") als bovengrens instellen. Omdat dit - anders dan bij mensen met een CI - lastig in te schatten is, zullen de cavia's direct na het aanzetten van de chronische elektrische stimulatie goed gecontroleerd (observaties van het gedrag) worden. Schrikreacties bij

het aanzetten zijn te verwachten, maar gewenning aan de "nieuwe" gehoorsensatie zal snel moeten optreden, anders is het stimulatieniveau te hoog.

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.

n.v.t.

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

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

- 1) gehoorverlies (bewust geïnduceerd)
- 2) gehoorsensatie door elektrische stimulatie (kan mogelijk onaangenaam zijn)
- 3) evenwichtsproblemen na cochleaire implantatie

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

- 1) Bijna volledig gehoorverlies wordt geïnduceerd om de situatie in de dove CI-gebruiker zo goed mogelijk na te bootsen.
- 2) Chronische elektrische stimulatie van de gehoorzenuw en stimulatie tijdens het uitvoeren van elektrofysiologische metingen.
- 3) Obstructie van cochleair aquaduct kan endolymfatische hydrops veroorzaken.

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

- 1) N.v.t.
- 2) Door de implanteerbare stimulators uit te rusten met infraroodcommunicatie, kan het stimulatie-niveau op elk moment tijdens de proef aangepast worden (observatie van gedrag, zoals betreffende evenwicht, en elektrofysiologische metingen; zie D).
- 3) antibiotica na de implantatie vermindert de kans op infectie.

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.

- Progressief gewichtsverlies na doofmaken (gedurende drie dagen >10% gewichtsverlies);
- oorinfectie of infectie rond connector/tandarcement op schedel na cochleaire implantatie;
- zichtbare evenwichtsproblemen na cochleaire implantatie.

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

Een schatting op basis van voorgaand onderzoek: 10-15%.

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.

matig

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee > Ga verder met de ondertekening.

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

De cochlea's moeten worden verwijderd voor histologische analyse.

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.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	11500				
1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.	UMC Utrecht				
1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table><thead><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr></thead><tbody><tr><td>2</td><td>Chronische elektrische stimulatie en brain-derived neurotrophic factor (CES+BDNF)</td></tr></tbody></table>	Volgnummer	Type dierproef	2	Chronische elektrische stimulatie en brain-derived neurotrophic factor (CES+BDNF)
Volgnummer	Type dierproef				
2	Chronische elektrische stimulatie en brain-derived neurotrophic factor (CES+BDNF)				

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.

Drie experimentele groepen cavia's zullen worden gebruikt. Alle cavia's zullen worden doofgemaakt (diermodel van verworven perceptief gehoorverlies) twee weken voordat ze een cochleair implantaat krijgen. De eerste groep zal alleen chronische elektrische stimulatie krijgen, de tweede alleen een BDNF-behandeling, en de laatste groep zal beide behandelingen krijgen. Chronische elektrische stimulatie begint enkele dagen na cochleaire implantatie (om de dieren tijd te geven om te herstellen van de operatie), en zal 12 uur per dag duren gedurende een periode van 4 weken. Er is gekozen voor 12 uur stimulatie per dag omdat dit ongeveer overeenkomt met de tijd waarin een CI-gebruiker het CI aan heeft staan. De totale periode waarin chronische elektrische stimulatie plaatsvindt (4 weken) is gekozen omdat in dit tijdsbestek zonder behandeling duidelijk structureel en functioneel verval van de gehoorzenuw

observeerbaar is (Ramekers et al. 2014). De BDNF-behandeling houdt in dat een stukje gelfoam gedrenkt in BDNF-oplossing op het ronde venster van de cochlea geplaatst zal worden tijdens de operatieve plaatsing van de intracochleaire elektrode. Wekelijks vanaf het moment van implantatie zullen elektrofysiologische metingen gedaan worden om de functionele staat van de gehoorzenuw in de tijd te kunnen volgen. De primaire uitkomstmaten van deze elektrofysiologische metingen zijn onder andere de amplitude, drempel en latentie van de elektrisch opgewekte samengestelde actiepotentiaal (electrically evoked compound action potential; eCAP) (Ramekers et al. 2014, 2015). Aan het einde van de experimentele periode (4 weken na implantatie) zullen de dieren worden geëuthanaseerd en zullen beide cochlea's histologisch verwerkt worden. Analyse van de cochlea's zal onder andere bestaan uit kwantificatie van het aantal zenuwcellen (spirale ganglioncellen) en de morfologische beschrijving hiervan (grootte en vorm).

Referenties:

Ramekers D, Versnel H, Strahl SB, Klis SFL, Grolman W (2015) Recovery characteristics of the electrically stimulated auditory nerve in deafened guinea pigs: relation to neuronal status. *Hear Res* 321:12-24.

Ramekers D, Versnel H, Strahl SB, Smeets EM, Klis SFL, Grolman W (2014) Auditory-nerve responses to varied inter-phase gap and phase duration of the electric pulse stimulus as predictors for neuronal degeneration. *J Assoc Res Otolaryngol* 15:187-202.

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.

Het doofmaken van alle dieren gebeurt onder algehele anesthesie. Hiertoe wordt subcutaan kanamycine toegediend en wordt de rechter vena jugularis externa gecannuleerd, waarin furosemide wordt geïnjecteerd. Dit is een standaard methode van doofmaken die effectief de cochleaire haarcellen vernietigt, zonder de haarcellen van het evenwichtsorgaan te beschadigen (Versnel et al. 2007; Bremer et al. 2012). Twee weken later (wanneer subtiele maar significante degeneratie al heeft plaatsgevonden) zal tevens onder algehele anesthesie een elektrode array in de rechtercochlea worden geplaatst. De connector van de array wordt m.b.v. tandartsceement op de schedel bevestigd, en hieraan wordt de stimulator gekoppeld, die daarna subcutaan bij de linkerschouder wordt geplaatst. Op het ronde venster van de cochlea zal een stukje gelfoam geplaatst worden dat gedrenkt is met BDNF (voor de twee BDNF-behandelde groepen) of met alleen PBS voor een negatieve controle. Vanaf het moment van implantatie zullen wekelijks elektrofysiologische metingen gedaan worden in sessies van 30-60 minuten per keer, middels koppeling van de elektrode-connector aan een humaan cochleair implantaat. Vanaf enkele dagen na het moment van implanteren zal voor 2 van de 3 groepen 12 uur per dag, 6 dagen per week de gehoorzenuw elektrisch gestimuleerd worden via de subcutaan geplaatste stimulator (de niet-gestimuleerde groep zal een dummie-stimulator geïmplantereerd krijgen). Doordat de stimulator onderhuids geïmplantereerd is, kunnen de dieren vrij rondlopen in hun kooi en hoeven ze niet solitair gehuisvest te worden gedurende deze periode.

Referenties:

Bremer HG, de Groot JCMJ, Versnel H, Klis SFL (2012). Combined administration of kanamycin and furosemide does not result in loss of vestibular function in guinea pigs. *Audiol. Neurotol.* 17:25-38.

Versnel H, Agterberg MJH, de Groot JCMJ, Smoorenburg GF, Klis SFL (2007). Time course of cochlear electrophysiology and morphology after combined administration of kanamycin and furosemide. *Hear. Res.* 231:1-12.

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

De effectgrootte van chronische elektrische stimulatie op functionaliteit van de zenuw is niet bekend (de proef met volgnummer 1 zal dit moeten uitwijzen). De toediening van BDNF middels gelfoam op het ronde venster heeft een kleiner effect dan BDNF-toediening via een osmotische pomp (beide technieken zijn in ons lab eerder gebruikt), zowel op het structurele als op het functionele behoud van de zenuw. Hoewel we verwachten dat de effectgrootte van de combinatie chronische elektrische stimulatie en BDNF-behandeling in de buurt komt van de effectgrootte van BDNF-behandeling via een osmotische pomp, denken we meer dieren per groep nodig te hebben dat in eerder onderzoek (met osmotische pomp), omdat de twee groepen zonder deze gecombineerde behandeling een kleinere effectgrootte zullen laten zien.

Een minimaal klinisch relevante effectgrootte zou ongeveer 20% zijn. Schattingen van standaarddeviaties van histologische en elektrofysiologische uitkomstmaten worden gebaseerd op eerdere studies. Op basis hiervan wordt het benodigde aantal dieren bepaald met een poweranalyse (power 90%, alpha 0.05). Hiermee komen we uit op tien dieren per groep als schatting van het benodigde aantal. Om zeker te kunnen zijn dat dit aantal per groep te verkrijgen, vragen we om toestemming voor in totaal 20 additionele dieren (zie ook punt B hieronder), die naar verwachten niet allemaal gebruikt zullen worden.

B. De dieren

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

- Cavia (Dunkin Hartley, Hsd DhI: DH): in gehooronderzoek wordt de cavia veel gebruikt, wat vergelijking met de literatuur mogelijk maakt. Daarbij heeft de cavia een eenvoudig te bereiken binnenoer en is het frequentiebereik relatief laag (i.e., redelijk gelijk aan dat van de mens). Tot slot hebben we (om eerdergenoemde redenen) veel ervaring met operaties en elektrofysiologische metingen bij cavia's.

- Drie groepen:

Groep 1) alleen BDNF-behandeling vanaf 2 weken na het doofmaken;

Groep 2) alleen chronisch elektrische stimulatie vanaf 2 weken na het doofmaken;

Groep 3) BDNF-behandeling en chronisch elektrische stimulatie vanaf 2 weken na het doofmaken.

- Er is geen controlegroep nodig, omdat het linkeroor van elk dier de negatieve controle is voor het gestimuleerde rechteroor.

- Niet genetisch gemodificeerd.

- Immunocompetent.

- In totaal denken we ongeveer 50 cavia's nodig te hebben: 10 dieren per groep en 20 voor het optimaliseren van het model (ongeveer 5) en voor het opvangen van uitval (ongeveer 15). Onder uitval verstaan we incidentele gevallen zoals bijvoorbeeld het niet bereiken van het beoogde gehoorverlies na doofmaken, infectie na implantatie, middenoorinfecties door gelfoam, dysfunctie van de elektrode array of van de stimulator, het uit de cochlea groeien van de elektrode array, en complicaties bij de relatief complexe operaties.

- We willen jong-volwassen vrouwelijke cavia's gebruiken van +/- 4 weken oud (+/- 300 gram). Dit omdat op jongere leeftijd minimale "natuurlijke" schade aan het gehoor is (uniformiteit) en omdat het ototoxische effect van kanamycine en furosemide op latere leeftijd minder groot is.

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.

Door de dieren chronisch te implanteren, kunnen effecten van degeneratie en hieropvolgende bescherming in de tijd gevolgd worden. Hierdoor is het aantal groepen beperkt. Daarnaast kunnen de linkercochlea's als negatieve controles dienen aangezien deze ook hun haarcellen verliezen (doofmaken gebeurt systemisch) en elektrische stimulatie alleen rechts plaatsvindt. Voorts is ervoor gekozen om geen normaalhorende controlegroep te gebruiken, aangezien het effect van chronische elektrische stimulatie van haarcellen onduidelijk is, en dit niet tot de vraagstelling behoort. Vergelijking met functie en aantallen zenuwcellen in de gezonde situatie zal gebeuren met de data van normaalhorende controles uit voorgaande studies.

Omdat de stimulator onderhuids geplaatst wordt, kunnen de dieren gedurende de stimulatieperiode gezamenlijk gehuisvest worden. Dit zou niet mogelijk zijn geweest als de stimulatie met een externe stimulator zou plaatsvinden via een kabel aangesloten op de geïmplanteerde elektrode array. Ook betekent dit dat de dieren tijdens de periodes van elektrische stimulatie vrij kunnen bewegen.

Er is gekozen voor enkel vrouwelijke cavia's omdat deze rustiger zijn. Wanneer de cavia's geïmplanteerd zijn bestaat de mogelijkheid dat mannetjes aan de externe delen van elkaars implantaten zitten. Door voor alleen vrouwelijke cavia's te kiezen kunnen we zeker zijn dat de dieren gezamenlijk gehuisvest kunnen worden.

Vervanging is niet mogelijk aangezien het gehele perifere gehoororgaan inclusief verbinding met de hersenstam (exclusief de haarcellen) via de gehoorzenuw intact en functioneel moet zijn. Natuurlijke degeneratie van dit gehele systeem (en voorkoming hiervan) kan niet ex vivo bestudeerd worden.

Behandeling van de gehoorzenuw met BDNF is nog niet bij mensen toegepast. In dierexperimenteel onderzoek zijn positieve functionele effecten gevonden, maar nog niet met een klinisch relevante toepassingsmethode (zoals gelfoam op het ronde venster). Daarbij is de functionaliteit van de gehoorzenuw na chronische elektrische stimulatie (alleen, of in combinatie met BDNF) niet eerder goed onderzocht. Voordat er geëxperimenteerd kan worden met BDNF in mensen met een cochleair implantaat, moet eerst dit gecombineerde effect in proefdieren onderzocht worden.

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.

1) Alle chirurgische ingrepen worden onder algehele anesthesie gedaan; post-operatief wordt pijnstilling gegeven.

2) De chronische elektrische stimulatie van de gehoorzenuw zal voor elk dier een andere drempel hebben voor een gehoorsensatie, maar ook voor het gevoel van pijnlijk hard geluid. De implanteerbare stimulator zal daarom zo aangepast worden dat het stimulatie-niveau (stroomsterkte) na implantatie via infraroodcommunicatie op afstand (door de huid) aangepast kan worden. Enerzijds kunnen we dan met behulp van de wekelijkse elektrofysiologische metingen de stroomsterkte instellen op een niveau dat nog net een respons van de zenuw opwekt (ondergrens), en anderzijds kunnen we een maximaal comfortabele stroomsterkte ("maximum comfortable level") als bovengrens instellen. Omdat dit - anders dan bij mensen met een CI - lastig is te schatten, zullen de cavia's direct na het aanzetten van de chronische elektrische stimulatie goed gecontroleerd (observaties van het gedrag) worden. Schrikreacties bij het aanzetten zijn te verwachten, maar gewenning aan de "nieuwe" gehoorsensatie zal snel moeten optreden, anders is het stimulatie-niveau te hoog.

3) Uit ervaring blijkt dat toediening van BDNF via gelfoam op het ronde venster brengt een kleiner risico op infectie met zich mee in vergelijking met

toediening via een osmotische pomp.

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.

n.v.t.

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

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

- 1) gehoorverlies (bewust geïnduceerd)
- 2) gehoorsensatie door elektrische stimulatie (kan mogelijk onaangenaam zijn)
- 3) evenwichtsproblemen na cochleaire implantatie

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

- 1) Bijna volledig gehoorverlies wordt geïnduceerd om de situatie in de dove CI-gebruiker zo goed mogelijk na te bootsen.
- 2) Chronische elektrische stimulatie van de gehoorzenuw en stimulatie tijdens het uitvoeren van elektrofysiologische metingen.
- 3) Obstructie van cochleair aquaduct kan endolymfatische hydrops veroorzaken.

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

- 1) N.v.t.
- 2) Door de implanteerbare stimulators uit te rusten met infraroodcommunicatie, kan het stimulatie-niveau op elk moment tijdens de proef aangepast worden (observatie van gedrag, zoals betreffende evenwicht, en elektrofysiologische metingen; zie D).
- 3) antibiotica na de implantatie vermindert de kans op infectie.

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.

- Progressief gewichtsverlies na doofmaken (gedurende drie dagen >10% gewichtsverlies);
- oorinfectie of infectie rond connector/tandarcement op schedel na cochleaire implantatie;
- zichtbare evenwichtsproblemen na cochleaire implantatie.

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

Een schatting op basis van voorgaand onderzoek: 10-15%.

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.

matig

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee > Ga verder met de ondertekening.

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

De cochlea's moeten worden verwijderd voor histologische analyse.

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

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer : **DEC 2015.I.02.002**
2. Titel van het project : **Bescherming van de functionaliteit van de gehoorzenuw in de doofgemaakte cavia**
3. Titel van de NTS : **Bescherming van de functionaliteit van de gehoorzenuw in de doofgemaakte cavia**

4. Type aanvraag:

- nieuwe aanvraag projectvergunning
- wijziging van vergunning met nummer :

5. Contactgegevens DEC

- Naam DEC : DEC Utrecht
- Telefoonnummer contactpersoon : 088 – [REDACTED]
- Emailadres contactpersoon : dec-utrecht@umcutrecht.nl

6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):

- ontvangen door DEC: **29-01-2015**
- aanvraag compleet:
- in vergadering besproken: **04-02-2015**
- anderszins behandeld: **16-02-2015 (emailronde)**
- termijnonderbreking(en) van / tot : **10-02-2015 tot 13-02-2015**
- besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
- aanpassing aanvraag:
- advies aan CCD: **26-02-2015**

7. Eventueel horen van aanvrager

- Datum:
- Plaats:
- Aantal aanwezige DEC-leden:
- Aanwezige (namens) aanvrager:
- Strekking van de vraag / vragen:
- Strekking van het (de) antwoord(en):
- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag:

8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: **10-02-2015 en 17-02-2015**
- Strekking van de vraag / vragen: **10-2-2015: De DEC heeft m.b.t. de NTS gevraagd het doel helderder weer te geven en vervanging en verfijning beter te motiveren. M.b.t. het projectvoorstel heeft de DEC gevraagd om meer achtergrondinformatie, een scherpere**

formulering van het doel, het belang en type dierproeven, een betere motivatie waarom dit onderzoek niet in mensen kan plaatsvinden, verduidelijking van de onderzoeksgroepen in experiment 1 en een toelichting voor het aanvragen van extra dieren in experiment 1 en 2. 17-02-2015: De DEC heeft geadviseerd het doel in de NTS verder te vereenvoudigen. Datum antwoord: 13-02-2015 en 17-02-2015

- Strekking van het (de) antwoord(en): **13-02-2015: N.a.v. de opmerkingen en vragen van de DEC zijn de NTS en het projectvoorstel zodanig aangepast dat het doel, het belang en type dierproef helder zijn weergegeven. Ook de motivatie waarom dit onderzoek niet met mensen kan worden uitgevoerd is helder evenals de onderbouwing voor het aanvragen van extra dieren en de onderzoeksgroepen in experiment 1. 17-02-2015: Het doel in de NTS is nog verder vereenvoudigd.**
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag: **Ja**

9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC)

- Aard expertise:
- Deskundigheid expert:
- Datum verzoek:
- Strekking van het verzoek:
- Datum expert advies:
- Expert advies:

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering. **N.v.t.**

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:
 - uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord
 - uit onderwijskundig oogpunt verantwoord
 - uit het oogpunt van productiedoeleinden verantwoord
 - wettelijk vereist
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) is in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en).
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. **Het belang wordt ingeschat als substantieel, omdat het onderzoek kan bijdragen aan een aanmerkelijke verbetering van**

het gehoor van mensen die zijn getroffen door doofheid. Doofheid is voor degenen die dit treft een ernstig probleem, dat de kwaliteit van leven sterk aantast, met name vanwege de sociale isolatie die doofheid met zich meebrengt. Doofheid ontstaat meestal door het verlies van haarcellen, waarna, als tenminste niet wordt ingegrepen, ook de gehoorzenuw degenerereert. Het zodanig verbeteren van de behandeling dat de functie van de gehoorzenuw zo goed mogelijk wordt behouden, is van groot belang voor het uiteindelijk kunnen herstellen van de gehoorfunctie met een cochleair implantaat.

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. **De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen beschikt om de projectdoelstelling met de gekozen strategie/aanpak binnen de gevraagde termijn te realiseren.**
5. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren:
- Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)
 - Niet-menselijke primaten (10e)
 - Dieren in/uit het wild (10f)
 - Gefokt voor dierproeven (11)
 - Zwerfdieren (10h)
 - Hergebruik (1e lid 2)
 - Huisvesting en verzorging
 - Locatie: instelling vergunninghouder (10g)
- De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd **N.v.t.**
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. **Het ongerief is door de onderzoeker ingeschat als matig. De DEC is van mening dat dit een realistische inschatting is. De dieren ondergaan een lichte ingreep onder anesthesie. Verder worden dieren van een soort waarvoor gehoor een belangrijke rol speelt, doof gemaakt. Het elektrisch stimuleren van de gehoorzenuw kan er toe leiden dat het dier geluiden "hoort" die als onaangenaam worden ervaren. De onderzoeker heeft ruime ervaring met doof maken van de dieren en het aanbrengen van het implantaat. Minder ervaring is er met het mogelijke ongerief dat optreedt als gevolg van het "geluid" van de stimulatie. Om die reden adviseert de DEC de Instantie voor Dierenwelzijn mee te laten kijken bij het experiment om te kijken of de inschatting reëel is.**
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen. **Het is namelijk voor de beoordeling van de effectiviteit van de interventies van essentieel belang om post mortem weefselonderzoek te doen. Daarnaast zijn er geen in vitro, noch ex vivo systemen beschikbaar. Naast het feit dat men post mortem**

weefselonderzoek wil doen, is behandeling van de gehoorzenuw met BDNF nog niet bij mensen toegepast. In dierexperimenteel onderzoek zijn positieve functionele effecten gevonden, maar nog niet met een klinisch relevante toedieningswijze (zoals gelfoam op het ronde venster). Ook is de functionaliteit van de gehoorzenuw na chronische elektrische stimulatie (alleen, of in combinatie met BDNF) nog niet eerder goed onderzocht. Om die reden is het dus ook niet mogelijk (een deel van) het onderzoek in mensen uit te voeren.

8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereisten van de vermindering van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat. **De DEC is van mening dat het maximale aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en proportioneel is ten opzicht van de gekozen strategie en looptijd. Er worden in beide experimenten extra dieren aangevraagd voor optimalisatie van het model en eventuele uitval. De DEC acht het aantal daarvoor gevraagde dieren voldoende onderbouwd. Daarnaast zullen deze extra dieren niet gebruikt worden wanneer dat niet nodig is.**
9. Het project is in overeenstemming met de vereisten van de verfijning van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten. **De DEC is van mening dat het project in overeenstemming is met de vereisten ten aanzien van de verfijning van dierproeven. Er wordt adequate pijnbestrijding en anesthesie toegepast en er vindt "fine tuning" van de elektrische stimulatie van de gehoorzenuw plaats. Daarnaast is gekozen voor het meest geschikte diermodel vanwege de goede bereikbaarheid van het binnenoor van de cavia en omdat het model de humane situatie goed benadert.**
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

Op grond van de onder C genoemde overwegingen is de DEC unaniem van mening dat het belang van de doelstelling, namelijk het sterk verbeteren van een behandeling tegen doofheid, substantieel is en opweegt tegen het matige ongerief dat een relatief beperkt aantal dieren in dit onderzoek zal ondervinden. Door het doof maken van de dieren, het aanbrengen van een implantaat en elektrische stimulatie van de gehoorzenuw treedt weliswaar matig ongerief op, maar naar het oordeel van de DEC is gekozen voor de juiste onderzoeksstrategie en zijn deze handelingen noodzakelijk voor het bereiken van het gewenste doel. Het is niet mogelijk om dit onderzoek bij mensen uit te voeren en er zijn evenmin in vitro of ex vivo alternatieven beschikbaar. De DEC acht vertaling van de resultaten naar de mens mogelijk. Dit alles brengt de DEC tot het oordeel dat het gebruik van de dieren in dit project gerechtvaardigd is.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

- De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is.
- De volgende doorslaggevende ethische bezwaren.
- De volgende tekortkomingen in de aanvraag.

De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden.

- Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.
- Voor de uitvoering van dit project is tevens een ministeriële ontheffing vereist.
- Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden.

De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UMC Utrecht

Postbus 12007
3501 AA UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.zbo-ccd.nl

T 0900-2800028 (10 ct /min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD11500201550

Datum 14 april 2015
Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Bijlagen
1

Geachte heer/mevrouw,

Op 27 februari 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Bescherming van de functionaliteit van de gehoorzenuw in de doofgemaakte cavia" met aanvraagnummer AVD11500201550. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

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.

U kunt met uw project "Bescherming van de functionaliteit van de gehoorzenuw in de doofgemaakte cavia" starten. De vergunning wordt afgegeven van 14 april 2015 tot en met 1 april 2019.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de dierexperimentencommissie DEC Utrecht gevoegd. 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. Wij nemen dit advies van de commissie over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Dit 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.zbo-ccd.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Het Bestuur van de Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:



Ir. G. de Peuter
Algemeen Secretaris

Dit besluit is genomen met inachtneming van het Besluit mandaat, volmacht en machtiging van de Centrale Commissie Dierproeven CCD 2014 zoals het bestuur van de Centrale Commissie Dierproeven heeft vastgesteld op 19 december 2014, ref 2014-04 en is gepubliceerd in de Staatscourant van 2 januari 2015, Nr. 163

Bijlagen

- Vergunning

- Hiervan deel uitmakend:
- Projectvoorstel
 - Niet-technische samenvatting
 - DEC-advies
 - Weergave wet- en regelgeving

Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: UMC Utrecht
Adres: Postbus 12007
Postcode en woonplaats: 3501 AA UTRECHT
Deelnemersnummer: 11500

deze projectvergunning voor het tijdvak 14 april 2015 tot en met 1 april 2019, voor het project "Bescherming van de functionaliteit van de gehoorzenuw in de doofgemaakte cavia" met aanvraagnummer AVD11500201550, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC Utrecht.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is associate professor. De functie van de medewerker die verantwoordelijk is voor de uitvoering van het project is postdoctoraal onderzoeker.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 9 maart 2015
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij brief op 9 maart 2015;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij brief op 9 maart 2015.
 - c. Advies van dierexperimentencommissie d.d. 26 februari 2015, ontvangen op 9 maart 2015

Dierproeven

Naam proef	Diersoort	Aantal dieren	Ongerief
Chronische elektrische stimulatie (CES)	Cavia (Dunkin Hartley, Hsd Dhl: DH)	50	Matig
Chronische elektrische stimulatie en brain-derived neurotrophic factor (CES+BDNF)	Cavia (Dunkin Hartley, Hsd Dhl: DH)	50	Matig

Bijzondere voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 Wod zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarden:

- 1) De IvD kijkt mee met de elektrische stimulatie om te kijken of de inschatting van het ongerief reëel is. Als het ongerief ernstiger blijkt te zijn dan matig, moet hiervoor een wijziging ingediend worden bij de CCD.
- 2) Het gebruik van de dieren en het aantal dieren voor het optimaliseren van het model vindt plaats in overleg met de IvD.
- 3) De uitkomsten van het eerste experiment terugkoppelen naar de IvD, vóór de start van het tweede experiment. Het tweede experiment mag alleen starten als het eerste experiment succesvol is gebleken.

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 van Economische Zaken 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 onvermijdelijk 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 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.

Datum

14 april 2015

Onze referentie

AVD11500201550

Uit artikel 13c 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 13d 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.

C11

C11