

Inventaris Wob-verzoek W17-07									
		wordt verstrekt			weigeringsgronden				
nr.	document NTS2016804	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
1	Aanvraagformulier				x		x		
2	Projectvoorstel			x					
3	Niet-technische samenvatting	x							
4	Bijlage beschrijving dierproeven			x					
5	DEC-advies			x					
6	Ontvangstbevestiging				x		x		
7	Reactie DEC nadere aanvulling CCD				x		x		
8	Advies CCD		x						x
9	Beschikking en vergunning				x		x		



## Aanvraag Projectvergunning Dierproeven

### Administratieve gegevens

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

## 1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in	11500
		<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	UMC Utrecht
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	30244197
		Straat en huisnummer	Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht
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>	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.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	PhD student
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	[REDACTED]
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]

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

## 2 Over uw aanvraag

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

## 3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- |            |              |
|------------|--------------|
| Startdatum | 1 - 1 - 2017 |
| Einddatum  | 1 - 1 - 2022 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Animal study to test spring based induction and reduction of spinal deformities
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Dierstudie om de inductie en reductie van groei-afwijkingen van de rug te onderzoeken met veerkrachten.
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- |             |                               |
|-------------|-------------------------------|
| Naam DEC    | DEC Utrecht                   |
| Postadres   | Postbus 85500 3508 GA Utrecht |
| E-mailadres | dec-utrecht@umcutrecht.nl     |

## 4 Betaalgegevens


- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 935 Lege  
 Wijziging € 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 1.7). De ondergetekende verklaart:
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
  - dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
  - dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
  - dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
  - dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam 

Functie 

Plaats Utrecht

Datum 19-12-2016

Handtekening 



## Form Project proposal

- This form should be used to write the project proposal for animal procedures.
- The appendix 'description animal procedures' is an appendix to this form. For each type of animal procedure, a separate appendix 'description animal procedures' should be enclosed.
- For more information on the project proposal, see our website ([www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

### 1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment.
- 1.3 Provide the title of the project.

### 2 Categories

- 2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project.
- Basic research
- Translational or applied research
- Regulatory use or routine production
- Research into environmental protection in the interest of human or
- Research aimed at preserving the species subjected to procedures
- Higher education or training
- Forensic enquiries
- Maintenance of colonies of genetically altered animals not used in other animal procedures

### 3 General description of the project

#### 3.1 Background

Describe the project (motivation, background and context) with respect to the categories selected in 2.

- For legally required animal procedures, indicate which statutory or regulatory requirements apply (with respect to the intended use and market authorisation).
- For routine production, describe what will be produced and for which uses.
- For higher education or training, explain why this project is part of the educational program and describe the learning targets.

Spinal deformity is a broad diagnostic classification that corresponds to an abnormal configuration of the spine in four possible directions: kyphosis, lordosis, lateral flexion deformity and rotation deformity. Combination of these abnormal configurations may be present in any spinal deformity. The spinal deformity can have different etiologic causes including congenital, neuromuscular and idiopathic. Often central to these spinal deformities is scoliosis, a complex three-dimensional spinal deviation that results in an abnormal spinal curve on plain x-rays. Idiopathic scoliosis is the largest group of spinal deformity and presents as a progressive torsional and lateral deformation of the spine in the growing child of unknown origin. This deformation is observed in about 5% of children. In about 0.5% of the children with a spinal deformation, medical attention is needed. In about 0.1% of children with a spinal curve of more than 10 degrees, the deformation becomes so severe that it needs surgical treatment (Konieczny et al., 2013). Left untreated in severe cases, the spinal deformity will continuously progress. This will eventually lead to a severe debilitating deformity, cardiopulmonary disease and early mortality (Pehrsson et al., 1992). In the previous decade, severe spinal deformities were treated with early fusion of the spine during childhood in order to stop progression of the curve (Dimeglio et al., 2012). Fusion consisted of reducing the spinal curve with metal rods connected to multiple spinal vertebrae. Fusion of the spine inhibits growth of the individual vertebrae and stops the overall thoracic growth. Problems with lung function and restrictive pulmonary disease occur in a substantial number of children with reduced thoracic growth (Karol, 2011). Posterior fusion of the spine during growth also causes a crankshaft problem; the vertebrae fuse posteriorly but continue to grow anteriorly (Dubousset et al., 1989). This crankshaft problem causes increased spinal torsion and leads to an increase of the spinal curve. The crankshaft problem will eventually result in material failure. In the previous decade several growth preserving techniques have been developed to combat this problem and control the spinal deformity, preserve growth and promote lung maturation (Tis et al., 2012).

Growing rods are currently used as a growth preserving technique for juvenile patients with spinal deformity in our clinic. Metal rods are connected to the spine with screws that are placed in the vertebrae. The juvenile patient has to be operated every 6 months after the initial implantation of the metal rods. The patient undergoes surgery to lengthen the rod-screw construct in the spine to allow for growth; an elongation surgery. These bi-annual surgical elongations are needed in order to prevent joint fusion of the spine, allow growth of the spine and prevent crank shafting (Akbarnia et al., 2008; Cahill et al., 2010). Therefore, the major drawback of growing rods are the multiple surgeries needed for a successful treatment and thus the increased infection risk. Moreover, the growth achieved per subsequent elongation decreases, lowering the effectiveness of the operations over time (Sankar et al., 2011). Other techniques were developed to obviate the need of re-operations and guide the spine. However, these growth guidance techniques showed a very high rate of auto-fusion of the spine, indicating the need for an active distraction force during treatment to reduce auto-fusion (Mardjetko et al., 1992; Fisk et al., 1995). Therefore, the previous decade a search began for a new single surgery spinal correction implant that retains spinal mobility and stimulates spinal growth. While new techniques were developed, they have unpredictable lengthening capacity, have a limited applicability due to their design, require advanced surgical experience and have a high frequency of reoperations (Campbell et al., 2004; Akbarnia et al., 2005; Cheung et al., 2012; McCarthy et al., 2014; Ouellet et al., 2011). Lastly, these techniques can in most cases not correct a spinal deformity to its original 3 dimensional alignment.

New and better devices are needed to treat spinal deformities in children. Therefore, a new spring-based non-fusion correction system was developed by the University of Twente. An animal study in pigs was done to test this spring-based non-fusion scoliosis correction system (Wessels et al., 2016). This spring-based design applied a continuous torque to the spine. Furthermore, this device allows passive longitudinal growth of the spine due to an integrated gliding mechanism. This device showed that it was capable of inducing spinal deformation without inhibiting growth of the spine and without fusion of the vertebrae. All implants remained functional, all animals reached their respective endpoints and no serious complications occurred during the experiment. The systems caused only moderate degeneration of the facet joints (especially at the instrumented ones) and some debris was found in surrounding tissue (Wessels et al., 2016).

Current scoliotic deformities are characterized by axial rotation, lateral deviation and anterior lengthening of the spine. Therefore, reducing the spinal deformity requires a torque and a growth stimulation to the posterior side of the spine. While the non-fusion system from Twente delivers a torque, a posterior distraction force is missing. Therefore, the UMC Utrecht and University of Twente realised an improved spring-based non fusion correction system with a combination of a torsional spring and a distraction spring.

The torsional and distraction springs need to be tested first on animals to study the effect on the spine during implantation. There are no vertebrates except humans that develop a scoliotic spinal deformity naturally. Therefore, the springs are first implanted and loaded in such a way that they *induce* a scoliotic spinal deformity in animals. After induction, a comparable system is implanted with a second surgery to *reduce* the scoliotic spinal deformity. The evaluation will be based on the degree of lateral curvature reduction after the second surgery. Please refer to the appendix for in-depth visuals and explanation on how the springs will be implemented (e.g. fig 2.). The optimal forces of the springs were selected based on extensive previous research by the University of Twente. All materials for the spring-based design have previously been used in orthopedic implants. If the forces of the springs, the force translation to the spine and biocompatibility after the first animal study are not deemed optimal, a new version of the spring-based non-fusion system needs to be tested. This will continue until the spring-based system is deemed optimal on all three points. We deem it feasible to test a maximum of 4 versions of the spring-based system in a time frame of 5 years. During the testing of the springs we will implant small springs intra-muscular to investigate the biocompatibility. We will use fluorochrome injections and CT's scans to investigate bone remodeling. Please refer to the appendix for an in depth explanation on the intra-muscular springs and the use of the fluorochrome injections.

### 3.2 Purpose

Describe the project's main objective and explain why this objective is achievable.

- If the project is focussed on one or more research objectives, which research questions should be addressed during this project?
- If the main objective is not a research objective, which specific need(s) does this project respond to?

#### Objective and research questions

The main objective is to analyze the functioning of the spring-based systems on spinal deformity induction and reduction. Following the main objective, our research question is the following; How much spinal deformity reduction can be achieved with a spring-based non fusion system? From previous animal research we know that a rotational spring-based non fusion system can successfully reduce a scoliotic spinal deformity (Wessels et al., 2016). We know from clinical studies in children that distraction based techniques can successfully reduce a scoliotic spinal deformity (Campbell et al., 2004; Akbarnia et al., 2005; Cheung et al., 2012). However, we do not know the amount of spinal curvature reduction with a combined torque and distraction force. Using a torque or distraction force has previously been deemed safe in animal studies (Wessels et al., 2016; Akbarnia et al., 2013). First inducing and reducing a spinal deformity is a safe and the preferred method for testing a spinal non-fusion system (Ouellet et al., 2012; Roth et al., 2013). Both the research teams of the UMC Utrecht and the University of Twente have extensive experience with animal studies, spinal surgery and non-fusion systems.

#### Other objectives

The other objective is to find new ways to improve possible new versions of the spring-based non fusion system. We will implant small springs intra-muscular to investigate potential small improvements (e.g. protective sleeves and delayed release systems) to the non-fusion system without the need to use new animals. Small springs are placed during the initial surgery with the same surgical incision. The small implants are placed far enough (> 2 cm) from the primary implant site that they will not interfere with the main objective. Another objective is to investigate the bone remodeling effects of the spring-based non fusion system. Therefore, we will use CT-scans and Fluorochrome injections to monitor bone remodelling and any spinal fusion. Fluorochrome injections have previously been implemented in animals successfully by one of the primary investigators of this project (Kruyt et al., 2008).

The remaining research questions are the following;

- How much spinal curvature during induction and reduction can be achieved by the implants?
- How much spinal rotation during induction and reduction can be achieved by the implants?
- How much growth during induction and reduction can be achieved by the implants?
- Does fusion of spine occur while using the implants?
- What are the soft tissue reactions on the implants?
- What is the remaining function of the springs after removal?
- What is the role of tissue ingrowth on the springs?
- What is the effect of protective measures on the functioning of the springs?

### **3.3 Relevance**

What is the scientific and/or social relevance of the objectives described above?

#### Scientific relevance

This study will add to our current knowledge on the etiology of scoliotic spinal deformities. The current cause of idiopathic scoliosis is still unknown despite the extensive research already available. If a coupled rotational force and distraction force can produce comparable features to a scoliotic deformity in humans, this knowledge can be used for future etiology studies. The ability to reduce a spinal deformity with a spring-based non-fusion system in animals could also add to our knowledge on the treatment of spinal deformities. This study can further shift the spinal deformity treatments to non-fusion systems. Auto-fusion is a serious problem in the current treatment of spinal deformities. This study further allows us to improve our knowledge on bone-modulation and auto-fusion of the spine during surgical spinal deformity treatment and possible ways to prevent it.

#### Social relevance

The current standard care requires a bi-annual surgical adjustment of the implants to allow for spinal growth. A spring-based correction obviates the need of reoperations because it allows and stimulates spinal growth. The lack of reoperations has a direct impact on the physical and mental health of a child with a spinal deformity. The reduction of operations and consequently hospitalisations has a direct economic benefit for the patient and society. Using the springs for the spinal correction, outcomes of spinal deformity correction can be improved and complications reduced. Improving outcomes and reducing complications can result in health and economic benefits on a patient and a society level.

### **3.4 Research strategy**

3.4.1 Provide an overview of the overall design of the project (strategy).

A spinal deformity induction-reduction animal model is the basis of the project. We will use the induction-reduction animal model to test different versions of a spring-based implant design. If the forces of the springs (e.g. not enough degree of spinal curvature reduction), the force translation to the spine (e.g. failure of the implant during testing) and biocompatibility (tissue reactions to the implant materials) after the first animal study are not deemed optimal, new animals are required to test a new version of the spring-based non-fusion system. This will continue until the spring-based system is deemed optimal. We deem it feasible to test a maximum of 4 versions of the spring-based system in a time frame of 5 years. During the testing of the spring-based non-fusion system, we will simultaneously test small springs intra-muscular. If the potential improvements (e.g. protective sleeves and delayed release systems) do not function properly, new versions of these small improvements will be tested in subsequent testing of the new versions of the spring-based non-fusion systems. During the testing of the spring-based non-fusion system, we will simultaneously look for bone-remodeling with fluorochrome injections. If the fluorochrome injections cannot provide a sufficient image for analysis of bone remodeling, the dosage and timing of the injections are changed during the subsequent testing of the new versions of the spring-based non-fusion systems. Please refer to the appendix for an in depth explanation on the intra-muscular springs and the use of the fluorochrome injections.

The same spinal deformity induction-reduction animal model will be used during the testing of every version. There will be no discernable differences in the grievance of the animals across the testing of the multiple versions of the spring-based implants.



3.4.2 Provide a basic outline of the different components of the project and the type(s) of animal procedures that will be performed.

A spinal deformity induction-reduction pig model will be used for every iteration of the spring-based implant. This model follows an established 4 step process to induce and reduce a spinal deformity in animals; induction surgery, induction phase, reduction surgery and reduction phase. The surgeries will not differ from the surgeries done in children and adhere to the same principles.

- Acclimatization for 1 week
- Pre-operative analgesic and general anaesthesia
- Induction surgery for placement of the induction springs
- Intramuscular placement of small springs
- Intra-operative fluorochrome injection
- Postoperative analgesic twice a day for 72 hours
- Post-operative monthly X-rays and CT's under sedation
- After spinal deformity induction, the pigs are selected for reduction surgery
- Pre-operative analgesic and general anaesthesia
- Reduction surgery for removal of induction springs and placement of reduction springs
- Intra-operative fluorochrome injection
- Postoperative analgesic twice a day for 72 hours
- Post-operative monthly X-rays and CT's under sedation
- Final intramusculair fluorochrome injection
- After spinal deformity reduction, the pigs are euthanised.
- The spring-based implants are removed and biomechanically examined.
- Intramusculair springs are removed
- The spines of the pigs are used for CT imaging and fluorochrome analysis

3.4.3 Describe the coherence between the different components and the different steps of the project. If applicable, describe the milestones and selection points.

Every version of the spring-based implant can be viewed as a different part of the project. It is essential to test different versions of the springs to find the optimal implementation for clinical application. If the forces of the springs, the force translation to the spine and biocompatibility of the spring-based implant after the first animal study are not deemed optimal, a new version of the spring-based non-fusion system is tested. If a new version is tested, the intramuscular springs and fluorochrome injections with CT's are automatically used again during the testing of the new version (Figure 1.).

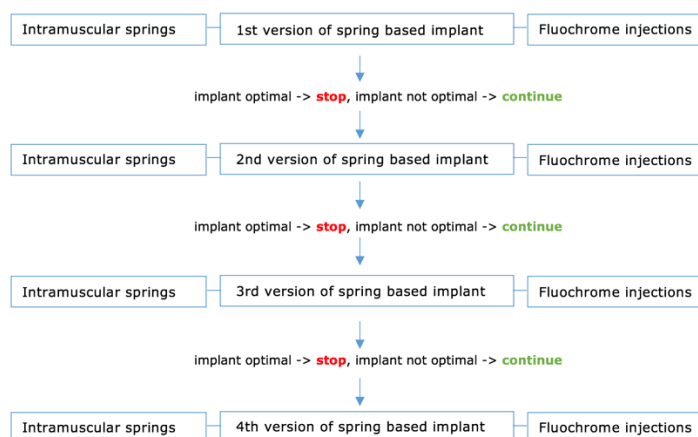


Figure 1. Flow-chart of the milestone and selection points

3.4.4 List the different types of animal procedures. Use a different appendix 'description animal procedures' for each type of animal procedure.

Serial number	Type of animal procedure
1	Animal study to test different versions of a spring-based spinal deformity induction and reduction.

## References

- Akbarnia, B. A., Marks, D. S., Boachie-Adjei, O., Thompson, A. G., & Asher, M. A. (2005). Dual growing rod technique for the treatment of progressive early-onset scoliosis: a multicenter study. *Spine*, *30*(17S), S46-S57.
- Akbarnia, B. A., Breakwell, L. M., Marks, D. S., McCarthy, R. E., Thompson, A. G., Canale, S. K., ... & Growing Spine Study Group. (2008). Dual growing rod technique followed for three to eleven years until final fusion: the effect of frequency of lengthening. *Spine*, *33*(9), 984-990.
- Akbarnia, B. A., Mundis Jr, G. M., Salari, P., Yaszay, B., & Pawelek, J. B. (2012). Innovation in growing rod technique: a study of safety and efficacy of a magnetically controlled growing rod in a porcine model. *Spine*, *37*(13), 1109-1114.
- Cahill, P. J., Marvil, S., Cuddihy, L., Schutt, C., Idema, J., Clements, D. H., ... & Betz, R. R. (2010). Autofusion in the immature spine treated with growing rods. *Spine*, *35*(22), E1199-E1203.
- Campbell, R. M., Smith, M. D., Mayes, T. C., Mangos, J. A., Willey-Courand, D. B., Kose, N., ... & Surber, J. L. (2004). The effect of opening wedge thoracostomy on thoracic insufficiency syndrome associated with fused ribs and congenital scoliosis. *J Bone Joint Surg Am*, *86*(8), 1659-1674.
- Cheung, K. M. C., Cheung, J. P. Y., Samartzis, D., Mak, K. C., Wong, Y. W., Cheung, W. Y., ... & Luk, K. D. K. (2012). Magnetically controlled growing rods for severe spinal curvature in young children: a prospective case series. *The Lancet*, *379*(9830), 1967-1974.
- Dimeglio, A., & Canavese, F. (2012). The growing spine: how spinal deformities influence normal spine and thoracic cage growth. *European Spine Journal*, *21*(1), 64-70.
- Dubousset, J., Herring, J. A., & Shufflebarger, H. (1989). The crankshaft phenomenon. *Journal of Pediatric Orthopaedics*, *9*(5), 541-550.
- Fisk, J. R., Peterson, H. A., Laughlin, R., & Lutz, R. (1995). Spontaneous fusion in scoliosis after instrumentation without arthrodesis. *Journal of Pediatric Orthopaedics*, *15*(2), 182-hyhen.
- Karol, L. A. (2011). Early definitive spinal fusion in young children: what we have learned. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, *469*(5), 1323-1329.
- Konieczny, M. R., Senyurt, H., & Krauspe, R. (2013). Epidemiology of adolescent idiopathic scoliosis. *Journal of children's orthopaedics*, *7*(1), 3-9.
- Kruyt, M., De Bruijn, J., Rouwkema, J., van Blitterswijk, C., Oner, C., Verbout, A., & Dhert, W. (2008). Analysis of the dynamics of bone formation, effect of cell seeding density, and potential of allogeneic cells in cell-based bone tissue engineering in goats. *Tissue Engineering Part A*, *14*(6), 1081-1088.
- Mardjetko, S. M., Hammerberg, K. W., Lubicky, J. P., & Fister, J. S. (1992). Review of Nine Cases Requiring Revision. *Spine*, *17*(5), 582-589.
- McCarthy, R. E., Luhmann, S., Lenke, L., & McCullough, F. L. (2014). The Shilla growth guidance technique for early-onset spinal deformities at 2-year follow-up: a preliminary report. *Journal of Pediatric Orthopaedics*, *34*(1), 1-7.
- Ouellet, J. (2011). Surgical technique: modern Luque trolley, a self-growing rod technique. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, *469*(5), 1356-1367.
- Ouellet, J., & Odent, T. (2013). Animal models for scoliosis research: state of the art, current concepts and future perspective applications. *European Spine Journal*, *22*(2), 81-95.
- Roth, A. K., Bogie, R., Jacobs, E., Arts, J. J., & van Rhijn, L. W. (2013). Large animal models in fusionless scoliosis correction research: a literature review. *The Spine Journal*, *13*(6), 675-688.
- Pehrsson, K., Larsson, S., Oden, A., & Nachemson, A. (1992). Long-Term Follow-Up of Patients with Untreated Scoliosis A Study of Mortality, Causes of Death, and Symptoms. *Spine*, *17*(9), 1091-1096.
- Sankar, W. N., Skaggs, D. L., Yazici, M., Johnston, C. E., Shah, S. A., Javidan, P., ... & Akbarnia, B. A. (2011). Lengthening of dual growing rods and the law of diminishing returns. *Spine*, *36*(10), 806-809.
- Tis, J. E., Karlin, L. I., Akbarnia, B. A., Blakemore, L. C., Thompson, G. H., McCarthy, R. E., ... & Growing Spine Committee of the Scoliosis Research Society. (2012). Early onset scoliosis: modern treatment and results. *Journal of Pediatric Orthopaedics*, *32*(7), 647-657.
- Wessels, M., Hekman, E. E., Kruyt, M. C., Castelein, R. M., Homminga, J. J., & Verkerke, G. J. (2016). Spinal shape modulation in a porcine model by a highly flexible and extendable non-fusion implant



## Appendix

### Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information, see our website ([www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

### 1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment.
- 1.3 List the serial number and type of animal procedure.
- | Serial number                  | Type of animal procedure  |
|--------------------------------|---|
| <input type="text" value="1"/> | <input type="text" value="Animal study to test spring based induction and reduction of spinal deformities."/> |
- Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.*

### 2 Description of animal procedures

#### A. Experimental approach and primary outcome parameters

Describe the general design of the animal procedures in relation to the primary outcome parameters. Justify the choice of these parameters.

##### General design

A spring based non-fusion system need to be tested on animals first to study the effect on the spine during implantation. There are no vertebrates except humans that develop a scoliotic spinal deformity naturally. Therefore, a spinal deformity has to be induced in animals before it can be reduced with a spring based non-fusion system. A scoliosis porcine model has previously successfully been used to induce and reduce a scoliosis.(Ouellet et al., 2012; Roth et al., 2013). An established 4 step process will be followed to induce and reduce a spinal deformity; induction surgery, induction phase, reduction surgery and reduction phase. First, induction springs will be fixated to the spine during surgery to induce a scoliotic spinal deformity. The animals are followed until a sufficient curvature develops (>15 degrees) in the spine. This sufficient curvature is based on the definition of a scoliosis. The animals are then selected for a reduction surgery. The induction springs are switched out with reduction springs during the reduction surgery. After the reduction surgery, the animals are followed until the spinal curvature is sufficiently reduced (>5 degrees). 23 animals will be used per version of the spring-based non fusion system. This will include 3 animals per version for testing purposes and confirmation that the implant fits and works. 20 animals per version will be used for the experimental set-up for the induction and reduction of a spinal deformity with a spring based implant.

##### Primary outcome

Our primary outcome the amount of spinal curvature reduction on imaging after reduction surgery. This outcome is also used in humans after surgical spinal deformity treatment. This primary outcome can help us improve the designs of the springs and answer questions about the etiology and progression of spinal

deformities.(Fig 1.). The sufficient induction curvature (>15 degrees) is based on the definition of a scoliotic spinal deformity. A scoliotic spinal deformity is defined as a curvature of 10 degrees or more on AP x-rays. A clinical significant reduction is when more than 5 degrees has changed between curves. Therefore, we used >15 degrees and more than 5 degrees as cut-of points for induction and reduction in our analysis. In humans has been shown that the time it takes to develop a scoliotic deformity differs between individual humans. The same happens in animals. If we induce a scoliotic deformity in animals and wait a fixed time, some animals will have developed a scoliotic deformity by that time and some do not. By using cut-of points, we can use all the animals for reduction surgery rather than using some of the animals. We do not expect that our endpoint is influenced by the different scoliosis induction times of the animals.

#### Porcine model

Numerous animal models for scoliosis models currently exist. The major drawback of all these models is the use of quadruped animals compared to a bipedal human for the investigation of scoliosis. In animals the spine is horizontal and in humans vertical. However, the forces on the the quadruped spine are quite similar to a human spine despite it's orientation. In animals, muscles and ligaments are needed to control the posture of a quadruped spine. As a consequence, the forces on the spine are mainly axial and comparable to humans.(Smit et al., 2002).However, it is theorized that the lack of upright position and rotational instability protects animals from developing a scoliosis.(Janssen et al., 2011).

The anatomy of the spine is an important factor in deciding the most optimal animal for scoliosis research. Bone follows wolffs law; bone in a healthy person or animal will adapt to the forces under which it is placed. If the spinal anatomy is comparable, it can be assumed that the forces on the spine are similar as well. Therefore, comparable anatomy of the spine between an animal and a human will result in a good model for scoliosis. Several studies have compared vertebrae of animals with those of human and found that the porcine spine was mostly comparable to a human spine. (McLain et al., 2002; Bozkus et al., 2005, Dath et al. 2007; Sheng et al., 2010).

Despite comparable anatomy, the porcine spine needs to be able to facilitate a scoliotic spinal deformity. Previous studies with a porcine model have shown that a three-dimensional deformity can be induced using various posterior tether types.(Accadbled et al., 2011; Chay et al., 2012; Odent et al., 2011; Schwab et al., 2009). Moreover, the previous study from our research group has shown that we can induce a three-dimensional deformity in porcine spines with a rotational force.(Wessels et al., 2016). Based on previous research, the porcine model has been recognised as the best option to investigate a new spinal implant.(Ouellet et al., 2012; Roth et al., 2013). The induction and reduction model has also been shown to be the preferred model for testing a non-fusion system.(Roth et al., 2013).

#### Induction surgery

20 pigs will be used for every version of the spring-based non fusion system. Every pig will receive a torsional induction spring with half of the pigs receiving an additional contralateral tension induction spring. A tether with sufficient slack is added to all the implants and will start working after 2 cm of spinal growth to aid in the induction process.(Fig 1.). The force of the tension spring (100N) and torsional spring (2Nm) were based on literature and previous research by the University of Twente to assure the safety of the animals.(Wessels et al., 2016; Accadbled et al., 2011; Chay et al., 2012; Odent et al., 2011; Schwab et al., 2009). The pigs will receive an X-ray immediately after implantation to asses the direct effect of the induction springs on the spine.

---

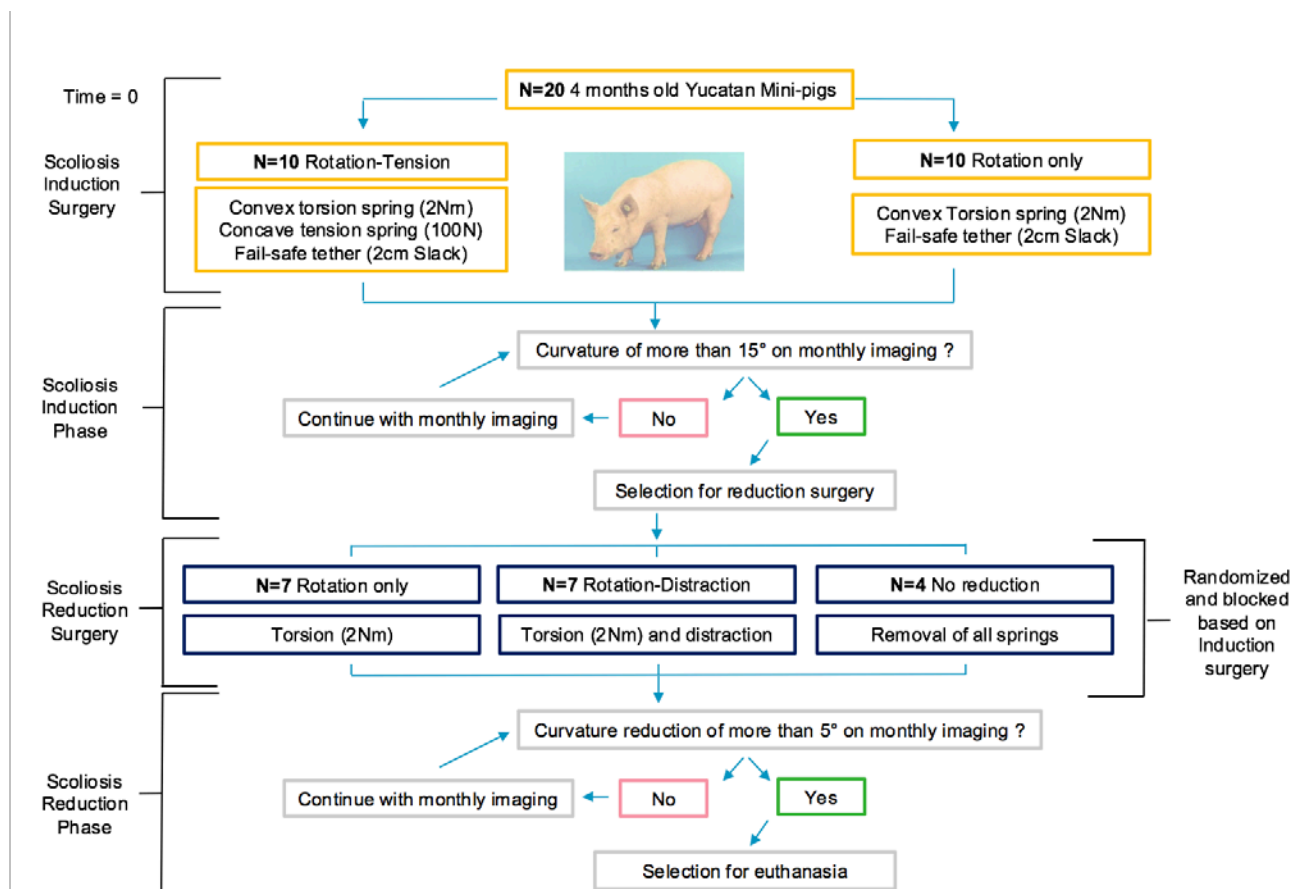


Fig 2. Schematic for general design.

### Induction phase

The pigs will be followed during the induction phase. An X-ray is made after 1 month to check for material failure and assess for deformity progression. A CT is made 2 months after surgery to assess for spinal deformity progression and magnitude. Every pig that shows a sufficient spinal curvature (>15 degrees) on imaging is directly selected for reduction surgery. The pigs that do not develop a sufficient spinal curvature will be followed until imaging shows a sufficient spinal curvature (>15 degrees). They will receive a CT on 3 months and subsequently monthly x-rays until a sufficient spinal curvature (>15 degrees) develops. These pigs will be selected for reduction surgery when a sufficient curvature (>15 degrees) is present on imaging. This means that it is possible that some pigs have an induction phase duration of 2 months, some have an induction phase of 3 months and the last 2 pigs will not be selected for reduction surgery but instead will first be euthanised. The spines in these pigs will be extracted and used for CT-imaging, histology and biomechanical analysis.

### Reduction surgery

A total of 18 pigs remain for reduction surgery. The 18 pigs will be selected for three different surgery groups based on a randomized block design (Fig. 1). This ensures that the two induction groups (pigs with contralateral tension springs and pigs without) are equally distributed over the three reduction groups. The first group will have their induction spring(s) exchanged with only a torsional spring for rotational reduction (n=7). The second group will have their induction spring(s) exchanged with a torsional spring and a distraction spring for a coupled reduction (n=7). The force of the distraction spring (100N) and torsional spring (2Nm) were based on literature and previous research by the University of Twente to assure the safety of the animals (Wessels et al., 2016; Akbarnia et al., 2012). The springs will be removed in the final group and no new springs are placed (n=4). This final group will be used to assess what degree of spinal reduction occurs without the use of reduction springs. This group will act as a control. The pigs will receive an x-ray immediately after implantation to assess the direct effect of the

induction springs on the spine.

#### Reduction phase

A total of 18 pigs will be followed during the reduction phase. An X-ray is made after 1 month to check for material failure and assess deformity progression. A CT is made after 2 months to assess for spinal deformity progression and magnitude. Every pig that shows a sufficient spinal curvature reduction of more than 5 degrees on imaging will be euthanized. The remaining pigs will be followed longer and receive a CT on 3 months and subsequently monthly x-rays. These pigs will be euthanized when a sufficient curvature reduction ( $>5$  degrees) is present on imaging. The spines in these pigs will be extracted and used for CT-imaging, histology and biomechanical analysis.

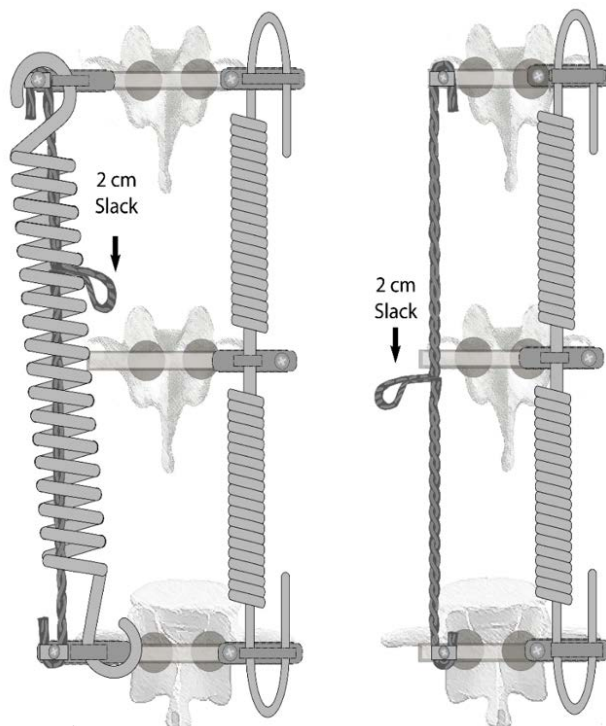


Fig 2. Left is a torsional induction spring with a contralateral tension induction spring and a tether with sufficient slack. Right shows the design without a contralateral tension induction spring

#### Fluorochrome injection

Three fluorochrome injections will be given during the study. Two injections during the induction and reduction surgery and finally one during the induction phase. The fluorochrome is taken up by the bone after injection. During histology, three fluorochrome bands are visible on the vertebrae and new bone-formation can be measured.

#### Intramuscular spring placement

These springs will be used to investigate two practical applications that can possibly be used in future versions of the springs. For example, protective measures around the springs could potentially prevent tissue ingrowth and improve the functioning of the springs. Another example would be a delayed spring release. Using a soluble suture around the spring, the force springs could potentially be released after the suture has been dissolved. This delayed spring release could theoretically prevent material failure by reducing the load on the implant material directly after surgery. The first version will implement these two improvements. During the testing of the second, third or fourth version of the spring based implant, these two applications could potentially be improved upon and tested again. Therefore, we are not certain on the exact specifications of the intramuscular springs after the first version. The improvements applied to the intramuscular springs would not alter the size, location or placement of the springs. These springs will be examined and mechanically tested on remaining strength and function.

#### Adjustment of the protocol in future versions

If one of the two induction surgeries (rotation-tension induction and rotation only induction) works better

during the testing of the first version of the spring based non-fusion system that induction type will be used during future testing of the 2,3 or 4<sup>th</sup> versions of the spring based non-fusion systems.

Describe the proposed animal procedures, including the nature, frequency and duration of the treatment. Provide justifications for the selected approach.

#### Acclimatisation

The pigs are allowed to acclimatize for 1 week before the start of the experiment.

#### Anaesthesia protocols (Induction surgery)

Pre-operative analgesic is provided by subcutaneous injections of analgesics minimum of 2h before surgery. All operations will be performed under general anaesthesia with adequate pain control during surgery.

#### Induction surgery (4 hours)

Before start of the surgery and after anaesthesia, a lateral and AP x-ray will be made of the pig. The operation will be performed in aseptically conditions. The surgeon will wear scrubs, sterile gloves and sterile gown. After shaving, the skin will be disinfected with iodine and the surgical site will be draped. A postero-lateral approach is done through one long skin incisions. The spine surgeon places a left and right pedicle screw in an upper, middle and lower vertebrae. The six pedicle screws will be placed with the free-hand technique. The upper instrumented vertebrae and lower instrumented vertebrae will span nine vertebrae. Bridges connect the left and right pedicle screws. These bridges contain a rail mechanism for easy sliding and locking of the springs. The induction springs are slid on the bridges along the spine and locked. A tether is locked on the bridges with 2 cm slack.(fig 2.). After the wound is closed, another lateral and AP x-ray will be made of the pig.

#### Intramuscular spring placement (Induction surgery)

We will use two intramuscular sites away from the surgical area to place small custom springs. The springs will be approximately 6 cm in size and place away from the primary surgical site (estimated 2 cm distance from the primary surgical site. The springs are removed after euthanasia of the animals for biomechanical testing. The placement of the springs is essential to find potential new improvements for the spring based implants. By utilising the same pigs for the intramuscular spring placement and the spring based implants, we can reduce the amount of animals used in this experiment.

#### Fluorochrome injection (Induction surgery)

A fluorochromic agent is injected intravenously after closure of the wound. The fluorochrome agent adheres to places of new bone formation. One fluorochrome agent is injected intra-muscular during the reduction phase. After euthanasia, the spines are harvested and readied for fluorochromic analysis. Assessing areas of new bone formation is essential in the development of a new spinal deformity reduction treatment. It can show the effect of the spring forces on bone growth and inform us on the etiology of spinal deformities.

#### Postoperative care (Induction phase)

The animals are postoperatively treated with the analgesic for 72 hours twice a day. The animals will be housed together. The animals will be placed under heat lamps post operatively.

#### Induction phase (2-6 months)

During the follow-up all the animals will receive an X-ray at 1 month and CT at 2 months. Pigs that progress to a spinal curvature of more than 15 degrees will directly be selected for reduction surgery. The remaining pigs are followed longer and receive a CT at 3 months and consequently monthly x-rays until they develop a sufficient spinal curvature (>15 degrees) and can be selected for reduction surgery. No pain or discomfort is expected from the spinal implants.

#### Anaesthesia protocols (Reduction surgery)

Pre-operative analgesic is provided by subcutaneous injections of analgesics minimum of 2h before surgery. All operations will be performed under general anaesthesia with adequate pain control during surgery.

#### Reduction surgery (2 hours)

Before start of the surgery and after anaesthesia, a lateral and AP x-ray will be made of the pig. During the second surgery the same skin incision is opened. The tethers are removed. The inductions spring(s) are easily unlocked and removed from the rail system. The reduction spring(s) are then placed and

locked on the rail system. The wound is again closed with resorbable sutures and staples. A different fluorochoime agent is injected after wound closure in order to examine new bone formation in the spine. Finally, another lateral and AP x-ray will be made of the pig.

#### Postoperative care (Reduction surgery)

The animals are postoperatively treated with the analgesic for 72 hours with analgesics twice a day. The animals will be housed together. The animals will be placed under heat lamps post operatively.

#### Reduction phase (2-6 months)

During the follow-up, all the animals will receive an X-ray at 1 month and CT at 2 months under sedation. A final intramuscular fluorochoime agent is injected during the 2 months CT in order to examine new bone formation. Pigs that have a reduction of a spinal curvature of more than 5 degrees will be selected for euthanasia. The remaining pigs are followed longer and receive a CT at 3 months and consequently monthly x-rays until they sufficiently reduce (> 5 degrees) the spinal curvature and can be selected for euthanasia. No pain or discomfort is expected from the spinal implants.

#### After euthanasia

After 2 months of reduction, the mini-pigs are euthanized and the spinal implants used for advanced imaging studies. After imaging, the implants are ex-planted and tested biomechanically. The spines are harvested for further histology.

---

Describe which statistical methods have been used and which other considerations have been taken into account to minimise the number of animals.

The three reduction groups will be analyzed with a repeated measurement ANOVA (between factor design). We expect that the spring reduction groups to reduce the spinal deformity curvature from 15 degrees to <10 degrees. We do not expect the control groups to change in spinal deformity curvature. From a previous spring-based implant study done by the University of Twente in domestic pigs we can extract a standard deviation of 2. (Wessels et al., 2016). A sample size calculation was done based on three groups in a repeated measurement ANOVA. This results in a total of 12 animals for our endpoint. However, the standard deviation is based on a different study using domestic pigs. We do not expect a difference in standard deviation with the previous study and the current study. However, to factor in the possibility that the standard deviation is different, we used a range of possible standard deviations. If we recalculate the sample size based on this range, we get a sample size between 9 and 15. We have to include the possibility of animals not reaching our endpoint. We estimate from similar studies that 15% of the animals will not reach our endpoint. Furthermore, 2 animals will be euthanized after the induction phase. Therefore, we need 20 pigs for every version of the spring based non fusion implant to make sure we have enough pigs at the final reduction endpoint. We also need 3 pigs for training purposes per version. We need 3 pigs for training for every version because the size and fixation method to the spine for every version of the spring based implant can substantially change. This changes the way the implant fits in the spine and the way the surgeon needs to fixated the implant to the spine. To make sure we don't wrongly implant 20 pigs or damage the spine of the pigs during the testing of a new version, we need training with 3 pigs per version of the spring-based implant. Thus, to test all versions of the spring based implant, we need 92 pigs.

## **B. The animals**

---

Specify the species, origin, estimated numbers, and life stages. Provide justifications for these choices.

We will use the previously established porcine model for the testing of the spring based non-fusion system. (Wessels et al., 2016). The spines of pigs are comparable to human spines and using pigs in an animal study is preferred method for testing a non-fusion system to correct a spinal deformity. (Ouellet et al., 2012; Roth et al., 2013). Domestic pigs were previously used in our animal model and we succesfully induced a scoliosis that is comparable to humans. However, the spinal growth rate of the domestic pigs was not comparable to humans. The spines of a domestic pig undergo a growth spurt, increases from 25 cm of spinal length to 75 cm in 5 months. This results in three big problems. At 6 months, domestic pigs are 90 kg and hard to handle. Making an implant that fits and functions in a 75 cm spine is impossible. The spines of domestic pigs undergo a giant growth spurt compared to a relative more stable growth rate of the spine in children. Therefore, the use of mini-pigs may provide a solution (Roth et al., 2013). Mini-pigs have previously successfully been used to induce scoliosis with other



research groups for spinal implants. (McLain et al., 2002; Newton et al., 2008; Akbarnia et al., 2012; Kim et al. 2004). Mini-pigs show a much more constant growth velocity and continue to grow over a longer period. (Fig. 3.). 6 months old mini-pigs are still <25kg making them better to handle for care-givers. Immature mini-pigs (mini-pigs reach maturity at 24 months) can be housed in groups and socially, thus improving the well-being of the animals.

Our induction and reduction scoliosis implant not only allows for growth, but also increases in applied force to the spine when the implant expands during growth. Because spring forces differ if they are applied over various distances, we need our animals to have the same spinal distance at the start of the experiment and the end. This means that we need to have a uniform growth rate to make sure that we apply the same forces at the same time points to each animals. E.g. an animal with a slow spinal growth rate (0,5 cm/month) and an animal with a fast spinal growth rate (grows 2 cm/month) would have different forces applied to there spine.

Unfortunately, male and female mini-pigs have different growth rates. (fig. 4) Therefore, we need to choose one sex in order to avoid applying different forces to the spine. This is probably the main reason why previous mini-pigs studies only used one sex of mini-pigs. (McLain et al., 2002; Newton et al., 2008; Akbarnia et al., 2012; Kim et al. 2004). Adolocent scoliosis occurs more in females than in males. However, adolocent scoliosis (scoliosis at an age >10) does not require a growth preserving treatment because surgeons can wait until the spine is fully grown before doing a single correction surgery. Scoliosis at a young age is much more progressive and children of this age have to be operated on a young age and during the growth period. Scioliosis that occurs during this period does not have a female dominance (Moe et al. 1984, Enercan et al. 2004). Moreover, scoliosis does not occur in animals, indicating that female domainance for scoliosis in animals is non-existant. Based on the weight data of gottingen mini-pigs we see that the male-mini pigs grow faster than the female mini-pig. Faster growth means more expansion of the implant and thus more force translation though the springs. This can result in that the induction of scoliosis is faster in male-pigs and may cause the average induction time to reduce substantially if we use the male-minipigs, reducing the unnececary greivance of the animals. Besides faster growth rate, we do have to know if the growth rate of male minipigs is comparable to children with scoliosis.

While the spinal growth rate of children is well documented and is similair between boys and girls during our interested growth period. The spinal growth of mini-pigs is not wel documented. Newton et al. used 7-month male yucatan mini-pigs for their experiement and found an comparable spinal growth rate to children. The 7-month male yucatan mini-pigs with an average vertebral growth rate of 1mm per vertebra per month for a period of 6 months for the minipigs. However, Yucatan mini-pigs are only available from United states of America. Gottingen mini-pigs are currently the only available mini-pigs in europe. No spinal growth data was available from Gottingen mini-pigs. Therefore, we went to their facility in denmark and aquired two different pigs for CT-scans. The spines were from 6 and 12 month old male gottingen pigs. We found that the spinal length over 10 vertebrea was 16,51 cm at 6 months and 21,58 cm at 11 months resulting in 5 cm growth. This results in 0,8mm growth rate per vertebra/per month. The growth rate of children varies from 0,7 mm at 5 years old to 1 mm per vertebra/per year untill the age of 15. (Newton et al., 2008). The average growth rate of children during the active growth period is 0,76 mm per vertebra/per year. This suggests that the spinal growth rate of male gottingen mini-pigs is comparable to children requiring surgery for scoliosis correction.

Based on sample size calculations we need 20 pigs for every version of the spring based non-fusion implant to make sure we have enough pigs at the final reduction endpoint. We also need 3 pigs for training purposes per version. To test all versions, we need 92 pigs.

### Relative Body Weights and Growth of Domestic and Miniature Pigs

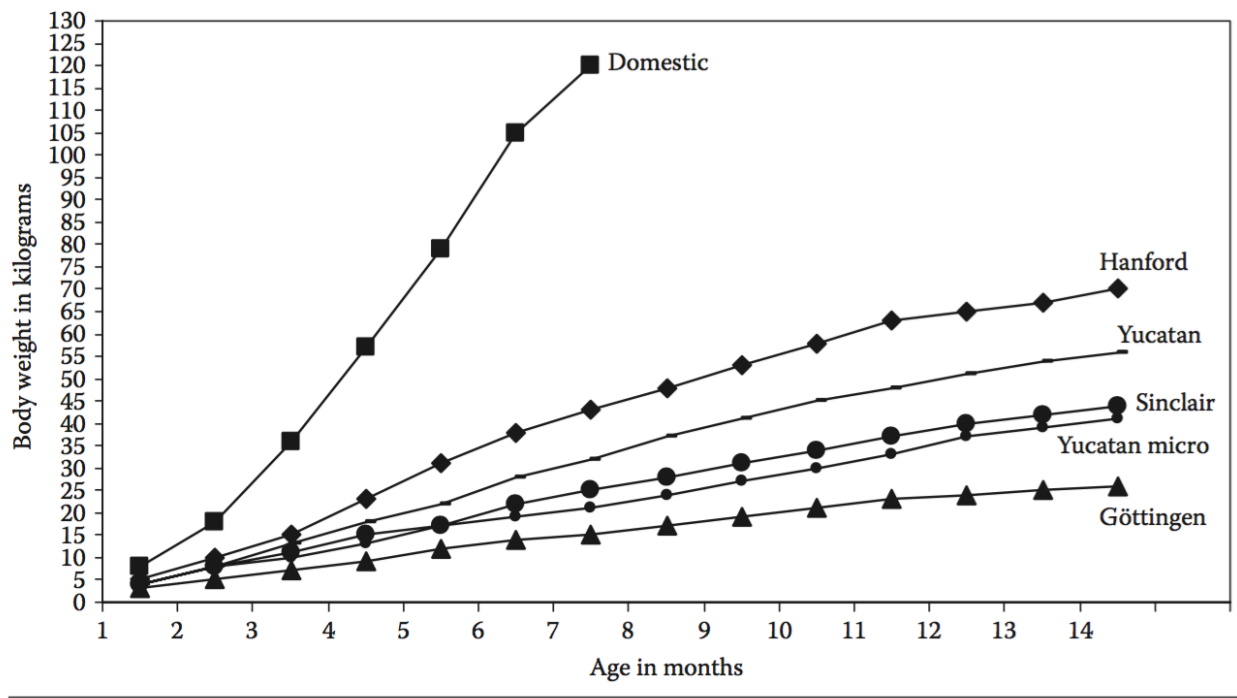


Fig 3. Growth chart comparing different sub-species of pigs.

### Growth of gottingen mini-pigs

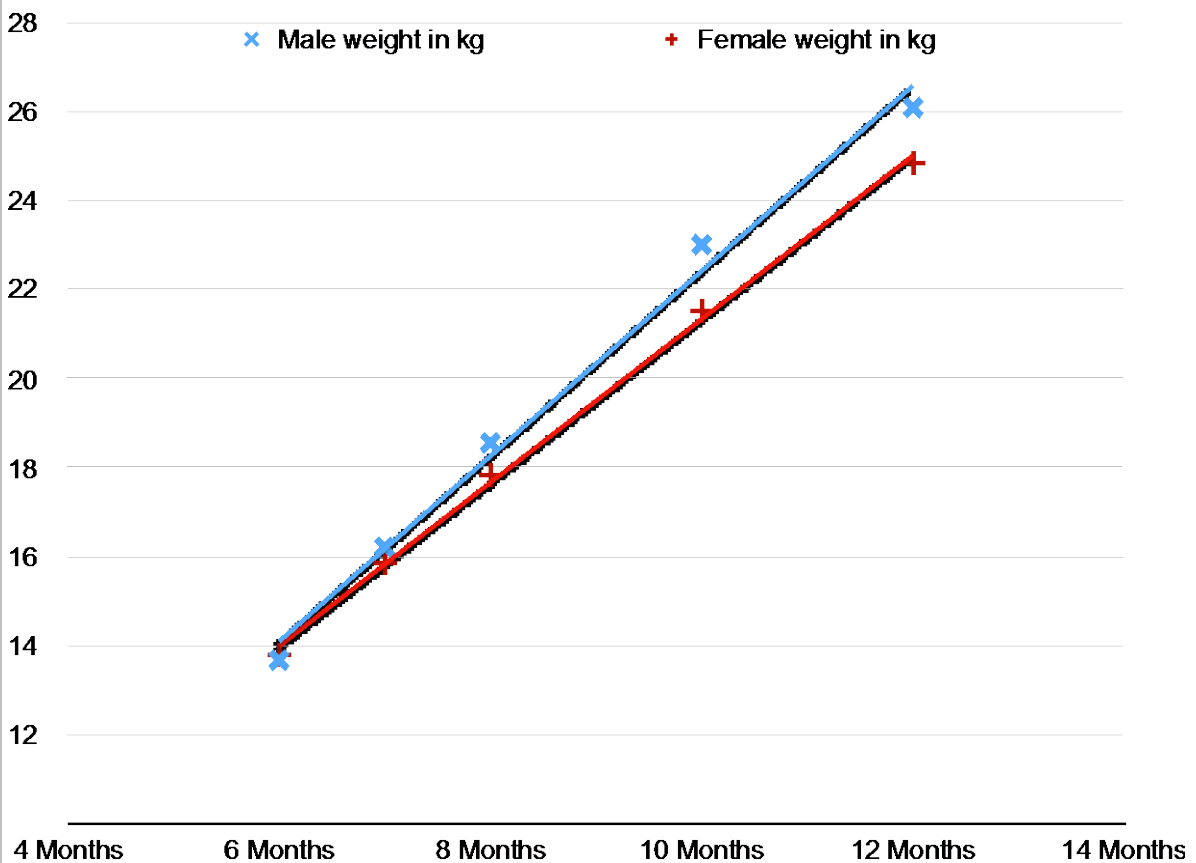


Fig 4. Growth chart comparing different sub-species of pigs.

---

**C. Re-use**

---

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.

---

Are the previous or proposed animal procedures classified as 'severe'?

No

Yes > Provide specific justifications for the re-use of these animals during the procedures.

---

**D. Replacement, reduction, refinement**

---

Describe how the principles of replacement, reduction and refinement were included in the research strategy, e.g. the selection of the animals, the design of the procedures and the number of animals.

Replacement

We need a dynamic growing spine that walks around, puts forces on the spine, has active tissue near the spine, has active bone reaction of the spine and is able to reduce a scoliotic spinal deformity during growth after implantation. There are currently no in vitro or biomechanical models capable of simulating these factors.

Reduction

During the testing of the spring based non-fusion system, we will simultaneously test small springs intramuscular to test potential improvements to the non-fusion system and we will use fluorochrome injections to investigate bone remodelling. This is essential for the development of a medical implant. By studying multiple research questions for our main objective in the same animals, we prevent the use of new animals for the testing of our multiple research questions.

Refinement

- Animals will be given 1 week to acclimatize to their new environment.
- The porcine model is the best animal model to test a non-fusion system.
- Eye ointment will be used to prevent dry eyes during surgery.
- During and after surgery the animals will be placed on heat mats.
- The mini-pigs will receive adequate anaesthetics to prevent harm during surgery.
- Analgesia medication will be administered for 3 days after surgery to prevent harm post-operatively.
- Post-operative follow-up will be noted in a logbook
- If the mini-pigs have too much discomfort of the experiment (i.e. no weight gain), the experiment will be halted

Explain what measures will be taken to minimise 1) animal suffering, pain or fear and 2) adverse effects on the environment.

The mini-pigs will have 1 week to acclimatize to the new environment before surgery. We will observe respiration continuously during surgery. The animals will be placed under heat lamps post operatively. The mini-pigs will be returned to routine housing after they have recovered from anesthesia. Unrestricted activity will be allowed post-op.

---

**Repetition and duplication****E. Repetition**

---

Explain what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, explain why repetition is required.

Extensive literature search. Not applicable.

---

**Accommodation and care****F. Accommodation and care**

---

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures not in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

No

Yes > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices.

### G. Location where the animals procedures are performed

Will the animal procedures be carried out in an establishment that is not licenced by the NVWA?

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

Provide justifications for the choice of this establishment. Explain how adequate housing, care and treatment of the animals will be ensured.

## Classification of discomfort/humane endpoints

### H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

Yes > Will anaesthesia, analgesia or other pain relieving methods be used?

No > Justify why pain relieving methods will not be used.

Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

Anaesthesia will be used for imaging studies. Pre-operative and post-operative analgesia is provided by subcutaneous injections of analgesics minimum of 2h before surgery and twice a day for 72 hours post-operatively.

### I. Other aspects compromising the welfare of the animals

Describe which other adverse effects on the animals' welfare may be expected?

1. Pre-operative: Light stress anaesthesia.  
2. Light stress postoperatively after implant surgery with adequate pain medication. No stress is expected during induction and reduction phase.  
3. Pre-imaging: light stress anaesthesia.  
4. Light stress during euthanasia.  
(Spinal non-fusion systems are used clinically in children who do not experience adverse effects of the systems after a short period of post-operative recovery.)

Explain why these effects may emerge.

All described measurements are needed to create the least harm for the animals and most secure outcomes for this project.

Indicate which measures will be adopted to prevent occurrence or minimise severity.

1. 1 week to acclimatize to new environment before surgery.  
2. Adequate pain medication.  
3. Adequate protocol for anaesthesia.  
4. Adequate protocol for euthanasia.  
5. Intensive monitoring of the animals.

### J. Humane endpoints

May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of

humane endpoints to prevent further distress?

No > Continue with question K.

Yes > Describe the criteria that will be used to identify the humane endpoints.

The mini-pigs will be euthanized in case the following humane endpoints are observed:

- Severe lethargy (extreme fatigue, prolonged sleep patterns)
- No weight gain (0% in 1 week)
- Paralysis (loss of function of the limbs)
- No sufficient curvature induction (>15 degrees)

Indicate the likely incidence.

- Severe lethargy = 2,5%
- Severe weight loss = 2,5%
- Paralysis = 5%
- No sufficient curvature induction (>15 degrees) = 5%

#### **K. Classification of severity of procedures**

Provide information on the expected levels of discomfort and indicate to which category the procedures are assigned ('non-recovery', 'mild', 'moderate', 'severe').

The procedure is classified as moderate.

### **End of experiment**

#### **L. Method of killing**

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

Yes > Explain why it is necessary to kill the animals during or after the procedures.

We will have to kill the animals after a long period of follow-up in order to remove the implanted spring and examine the tissue ingrowth.

Is the proposed method of killing listed in Annex IV of Directive 2010/63/EU?

No > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

Yes

## References

- Accadbled, F., Laffosse, J. M., Odent, T., Gomez-Brouchet, A., de Gauzy, J. S., & Swider, P. (2011). Influence of growth modulation on the effective permeability of the vertebral end plate. A porcine experimental scoliosis model. *Clinical Biomechanics*, 26(4), 337-342.
- Akbarnia, B. A., Mundis Jr, G. M., Salari, P., Yaszay, B., & Pawelek, J. B. (2012). Innovation in growing rod technique: a study of safety and efficacy of a magnetically controlled growing rod in a porcine model. *Spine*, 37(13), 1109-1114.
- Bozkus, H., Crawford, N. R., Chamberlain, R. H., Valenzuela, T. D., Espinoza, A., Yüksel, Z., & Dickman, C. A. (2005). Comparative anatomy of the porcine and human thoracic spines with reference to thoracoscopic surgical techniques. *Surgical Endoscopy And Other Interventional Techniques*, 19(12), 1652-1665.
- Chay, E., Patel, A., Ungar, B., Leung, A., Moal, B., Lafage, V., ... & Schwab, F. (2012). Impact of unilateral corrective tethering on the histology of the growth plate in an established porcine model for thoracic scoliosis. *Spine*, 37(15), E883-E889.
- Dath, R., Ebinesan, A. D., Porter, K. M., & Miles, A. W. (2007). Anatomical measurements of porcine lumbar vertebrae. *Clinical biomechanics*, 22(5), 607-613.
- Enercan, Meric, et al. "Apical and Intermediate Anchors Without Fusion Improve Cobb Angle and Thoracic Kyphosis in Early-onset Scoliosis." *Clinical Orthopaedics and Related Research*® 472.12 (2014): 3902-3908.
- Janssen, M. M., de Wilde, R. F., Kouwenhoven, J. W. M., & Castelein, R. M. (2011). Experimental animal models in scoliosis research: a review of the literature. *The Spine Journal*, 11(4), 347-358.
- Kim, W. J., Lee, S. H., Shin, S. W., Rivard, C. H., Coillard, C., & Rhalmi, S. (2004). The Effect of Segmental Pedicle Screw Instrumentation on Actively Growing Spine. *J Korean Neurosurg Soc*, 35, 502-506.
- Moe, John H., et al. "Harrington instrumentation without fusion plus external orthotic support for the treatment of difficult curvature problems in young children." *Clinical orthopaedics and related research* 185 (1984): 35-45.
- McLain, R. F., Yerby, S. A., & Moseley, T. A. (2002). Comparative morphometry of L4 vertebrae: comparison of large animal models for the human lumbar spine. *Spine*, 27(8), E200-E206.
- Newton, P. O., Upasani, V. V., Farnsworth, C. L., Oka, R., Chambers, R. C., Dwek, J., ... & Mahar, A. T. (2008). Spinal growth modulation with use of a tether in an immature porcine model. *J Bone Joint Surg Am*, 90(12), 2695-2706.
- Odent, T., Cachon, T., Peultier, B., Gournay, J., Jolivet, E., Elie, C., ... & Viguier, E. (2011). Porcine model of early onset scoliosis based on animal growth created with posterior mini-invasive spinal offset tethering A preliminary report. *European Spine Journal*, 20(11), 1869-1876.
- Ouellet, J., & Odent, T. (2013). Animal models for scoliosis research: state of the art, current concepts and future perspective applications. *European Spine Journal*, 22(2), 81-95.
- Roth, A. K., Bogie, R., Jacobs, E., Arts, J. J., & van Rhijn, L. W. (2013). Large animal models in fusionless scoliosis correction research: a literature review. *The Spine Journal*, 13(6), 675-688.
- Sheng, S. R., Wang, X. Y., Xu, H. Z., Zhu, G. Q., & Zhou, Y. F. (2010). Anatomy of large animal spines and its comparison to the human spine: a systematic review. *European Spine Journal*, 19(1), 46-56.
- Smit, T. H. (2002). The use of a quadruped as an in vivo model for the study of the spine—biomechanical considerations. *European Spine Journal*, 11(2), 137-144.
- Schwab, Frank, et al. "A porcine model for progressive thoracic scoliosis." *Spine* 34.11 (2009): E397-E404.
- Wessels, M., Hekman, E. E., Kruyt, M. C., Castelein, R. M., Homminga, J. J., & Verkerke, G. J. (2016). Spinal shape modulation in a porcine model by a highly flexible and extendable non-fusion implant system. *European Spine Journal*, 1-9.

#### **A. Algemene gegevens over de procedure**

1. Aanvraagnummer : 2016.II.548.025
2. Titel van het project : Animal study to test different versions of a spring based spinal deformity induction and reduction
3. Titel van de NTS : Dierstudie om de inductie en reductie van rug afwijkingen tijdens de groei te onderzoeken met veerkrachten

#### 4. Type aanvraag:

- nieuwe aanvraag projectvergunning  
 wijziging van vergunning met nummer :

#### 5. Contactgegevens DEC

- Naam DEC : DEC Utrecht  
Telefoonnummer contactpersoon : 088 – 75 59 247  
Emailadres contactpersoon : dec-utrecht@umcutrecht.nl

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

- ontvangen door DEC: 11-10-2016  
 aanvraag compleet:  
 in vergadering besproken: 24-10-2016  
 anderszins behandeld:  
 termijnonderbreking(en) van / tot : 31-10-2016/12-12-2016  
 besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:  
 aanpassing aanvraag:  
 advies aan CCD: 19-12-2016

#### 7. De aanvraag is afgestemd met de IvD en deze is hiermee akkoord.

#### 8. Eventueel horen van aanvrager

- Datum:
- Plaats:
- Aantal aanwezige DEC-leden:
- Aanwezige (namens) aanvrager:
- Gestelde vragen en verstrekte antwoorden:
- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag.

#### 9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum vragen: 31-10-2016
- Datum antwoord: 12-12-2016
- Gestelde vragen en antwoorden:

## Projectvoorstel

- 3.1 Achtergrond: De percentages die genoemd worden in de eerste alinea, zijn dat absolute percentages of percentages van percentages? De DEC adviseert u dit anders te formuleren.

*De percentages zijn verduidelijkt.*

## Bijlage 1

- B. De dieren: De DEC verzoekt u hier nader te onderbouwen waarom u mannelijke minipigs wilt gebruiken. Bij, bijvoorbeeld, de göttingen minipigs ligt de curve namelijk veel vlakker. Of zou de keuze voor mannelijke dieren voor alle soorten biggen gelden? Graag uw motivatie/verhelderen.

*De argumentatie voor mannelijke mini-pigs is verder uitgewerkt en verduidelijkt.*

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

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

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

## **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. Er zijn geen DEC-leden betrokken bij het betreffende project.

## **C. Beoordeling (inhoud):**

1. De aanvraag is toetsbaar en heeft voldoende samenhang.

Scoliose is een complexe driedimensionale vervorming van de wervelkolom die verschillende oorzaken kan hebben. In de meeste gevallen is de oorzaak niet bekend en spreekt men van idiopathische scoliose. Deze vorm van scoliose ontstaat bij kinderen in de groei, treedt op bij 5% van alle kinderen, en is progressief van aard. Of medische behandeling van de scoliose vereist is hangt af van de ernst van de vervorming. In 0,1% van de kinderen met idiopathische scoliose is chirurgisch ingrijpen noodzakelijk om ernstige complicaties op latere leeftijd – zoals invaliditeit en cardiopulmonaire aandoeningen – te voorkomen. Tijdens de gangbare chirurgische behandeling wordt de stand van de wervels gecorrigeerd en de wervelkolom in de gewenste positie vastgezet. De implantaten die daarvoor gebruikt worden houden de wervels in de juiste positie, maar kunnen niet meegroeien met de wervelkolom. Daarom moet een patiënt in de huidige situatie gedurende de groei vele heroperaties ondergaan, waarbij het implantaat



aangepast wordt aan de toenemende lengte van de wervelkolom. Het spreekt voor zich dat dergelijke operaties zowel fysiek als psychisch zeer belastend zijn voor de jeugdige patiënten, en de behoefte aan effectievere behandelmethoden groot is.

Met behulp van het voorliggende project wil de aanvrager daarom de werkzaamheid van een nieuw type implantaat onderzoeken. De aanvrager heeft in samenwerking met een andere onderzoeksgroep veren ontwikkeld die zodanig geïmplanteerd kunnen worden dat zij de stand van de wervelkolom in een driedimensionaal vlak corrigeren, en tegelijkertijd ook mee kunnen groeien met de wervelkolom. Al het noodzakelijke vooronderzoek heeft reeds plaatsgevonden. Wat rest is het aantonen van de werkzaamheid van dit nieuw type implantaat *in situ* met behulp van dierexperimenteel onderzoek.

2. Voor zover de DEC bekend, is er geen mogelijk tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan.
3. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie sluit aan bij de hoofddoelstelling.

#### *Belangen en waarden*

4. Het directe doel van het project is het in kaart brengen van de werkzaamheid van een nieuw type implantaat met betrekking tot de reductie van geïnduceerde scoliose in minivarkens. Het uiteindelijke doel van het project is de ontwikkeling van een nieuw type implantaat voor de behandeling van scoliose in kinderen. Voordat de werkzaamheid van het te onderzoeken implantaat in mensen onderzocht kan worden is het van belang dat een *proof-of-concept* en een onderbouwing van de onderliggen hypothese geleverd wordt met behulp van dierexperimenten. De DEC is daarom van mening dat er in voldoende mate een relatie is tussen het directe doel en het uiteindelijke doel, en dat de beschreven experimenten noodzakelijk zijn om het uiteindelijke doel te kunnen bereiken.
5. De belangrijkste belanghebbenden in dit onderzoeksproject zijn: de proefdieren, de patiënten, het onderzoeksveld en de industrie. De morele waarden die voor de proefdieren in het geding zijn: welzijn (pijn en stress) en rechtvaardigheid (intrinsieke waarde en integriteit). De morele waarden die voor de patiënten worden bevorderd zijn: welzijn (kwaliteit van leven) en rechtvaardigheid (beschikbaarheid van werkzame implantaten). De morele waarden die voor het onderzoeksveld en de industrie worden bevorderd zijn: welzijn (wetenschappelijke respectievelijk commerciële ontwikkelingen).
6. Er is geen sprake van substantiële milieueffecten.

#### *Proefopzet en haalbaarheid*

7. De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn voldoende gewaarborgd en dragen eraan bij dat de doelstellingen behaald kunnen worden, dat

aan de 3V-beginselen voldaan kan worden en dat voorkomen kan worden dat mens, dier en milieu negatieve effecten ondervinden als gevolg van de dierproeven. Beide betrokken onderzoeksgroepen hebben veel ervaring met vergelijkbaar orthopedisch dierexperimenteel onderzoek. De DEC is van mening dat het projectvoorstel aansluit bij recente inzichten en dat het geen belangrijke hiaten bevat die de bruikbaarheid van de resultaten beperken. Het feit dat de voorliggende aanvraag een samenwerkingsproject is van een klinische onderzoeksgroep uit het UMC Utrecht en een technische onderzoeksgroep van de Universiteit Twente draagt bij aan de haalbaarheid en de relevantie van het project.

8. Het project is goed opgezet en de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters sluiten logisch en helder aan bij de aangegeven doelstellingen. In de aanvraag is helder toegelicht waarom het minivarken in het algemeen – en het Göttinger ras in het bijzonder – de aangewezen diersoort is voor de voorgestelde experimenten. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstellingen binnen het kader van het project. De onderzoeksstrategie, de logische samenhang tussen de verschillende onderdelen en go/no-go momenten, en de fasering in de uitvoering zijn met behulp van twee figuren helder uiteengezet. Elk experiment uit bijlage 1 is opgedeeld in twee logisch op elkaar volgende fasen. In de eerste fase wordt bij minivarkens scoliose geïnduceerd, omdat minivarkens – net als alle andere diersoorten en in tegenstelling tot de mens – van nature geen scoliose ontwikkelen. Wanneer in de eerste fase bij een minivarken in voldoende mate een kromming van de wervelkolom is bewerkstelligd (>15 graden) dan gaat de tweede fase van het experiment in. Dat houdt in dat het betreffende dier een tweede operatieve ingreep ondergaat, waarbij een implantaat aangebracht wordt dat de geïnduceerde scoliose moet reduceren. Wanneer voldoende reductie van de scoliose is bewerkstelligd, dan is het gewenste eindpunt van het betreffende experiment bereikt en wordt het betreffende dier geëuthanaseerd voor nadere analyse van het implantaat en omliggende weefsels. Wanneer onvoldoende reductie van de scoliose bewerkstelligd kan worden, dan eindigt de studie op een vooraf vastgesteld tijdstip. Wanneer na afloop van een experiment blijkt dat de werkzaamheid van een implantaat niet aan alle (in de aanvraag nader toegelichte) criteria voldoet, dan wordt het ontwerp van het implantaat aangepast en de werkzaamheid van het geoptimaliseerde implantaat in een volgende reeks experimenten onderzocht (maximaal 3 keer, dus 4 versies van het implantaat). Wanneer de werkzaamheid van een implantaat wel aan alle criteria voldoet, dan is het doel van de projectaanvraag bereikt en stopt de studie.

#### *Welzijn dieren*

9. Er is geen 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)
  - Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I richtlijn)

- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e lid 2)
- Locatie: buit instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV richtlijn (13c lid 3)

10. De dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de richtlijn.
11. Het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Alle dieren zullen twee operatieve ingrepen ondergaan en meerdere keren gesedeerd worden ten behoeve van beeldvorming. Het matige ongerief dat hieruit volgt is toe te schrijven aan de directe gevolgen van de operaties en de herhaaldelijke anesthesie (kortdurende pijn en stress). Eerder uitgevoerde vergelijkbare experimenten hebben uitgewezen dat varkens geen pijn of stress ervaren door de indirecte gevolgen van de operaties (de feitelijke inductie en reductie van scoliose).
12. De integriteit van de dieren wordt aangetast door fysieke en mentale aantasting. De dieren worden geanestheiseerd (mentale aantasting) zodat scoliose geïnduceerd en vervolgens gereduceerd kan worden (fysieke aantasting).
13. De humane eindpunten zijn in de bijlage dierproeven goed gedefinieerd en het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt bereikt is goed ingeschat. Men houdt er rekening mee dat een aantal dieren het humaan eindpunt bereikt ten gevolge van complicaties na een operatieve ingreep: ernstige lethargie (2,5%), stagnatie in groei (2,5%) en paralyse (5%). Ook houdt men er rekening mee dat bij een aantal dieren (5%) onvoldoende kromming in de wervelkolom (<15 graden) bewerkstelligd kan worden. In dat geval is een no-go moment bereikt en wordt het betreffende dier uit de proef genomen.

3V's

14. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Het ontstaan en de operatieve reductie van scoliose in een kind in groei gaat gepaard met een complex samenspel tussen verschillende biodynamische krachten en weefsels. Er zijn geen *in vitro* en biodynamische modellen beschikbaar die de onderliggende processen zodanig kunnen nabootsen, dat een betrouwbare uitspraak gedaan kan worden over de werkzaamheid van een implantaat *in situ*.
15. Het aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en er is een heldere strategie om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Met behulp van gegevens uit eerder uitgevoerd vergelijkbaar onderzoek is bepaald welke groepsgrootte nodig is om statistisch en biologisch

significante verschillen tussen groepen te kunnen detecteren. Bij de berekening van de benodigde groepsgrootte is rekening gehouden met het aantal dieren dat naar verwachting het humaan eindpunt zal bereiken (15% in totaal, zie C13). Voor elk van de vier varianten van het implantaat worden 3 extra dieren aangevraagd voor trainingsdoeleinden. De grootte en fixatiemethode kunnen tussen de varianten namelijk aanzienlijk verschillen, en daarom is het van belang dat voorafgaand aan het feitelijke experiment geoefend wordt met het aanbrenge van de betreffende variant. Op deze wijze wordt voorkomen dat proefdieren tijdens het experiment op grond van technische problemen vroegtijdig uit de studie gehaald moeten worden. Proefdieren worden efficiënt ingezet door tegelijk met het feitelijke experiment ook aanvullende onderzoeksvragen in hetzelfde dier te onderzoeken: fluorochroom injecties worden toegediend om de remodellering van het botweefsel in kaart te brengen, en kleine implantaten worden intramusculair aangebracht om de invloed van veranderingen in het ontwerp van het implantaat te onderzoeken. De resultaten van de aanvullende experimenten zullen in het lopende project toegepast worden voor de optimalisatie van de verschillende te onderzoeken varianten van het implantaat.

16. Het project is in overeenstemming met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project is zodanig opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. De onderzoeksgroep heeft veel ervaring met de uit te voeren experimentele handelingen. Om ongerief zoveel mogelijk te beperken worden adequate en op het model afgestemde analgesie- en anesthesieprotocollen toegepast. De minivarkens worden gedurende het gehele experiment – ook direct na een operatie – in groepsverband gehuisvest.
17. Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.

*Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef*

18. Er zullen in bijlag 1 alleen mannelijke dieren gebruikt worden, omdat het van belang is dat de variatie tussen de dieren met betrekking tot de groeicurve tot een minimum gereduceerd wordt. De mate waarin het implantaat in een dier tijdens de groei uitgerekt wordt is namelijk bepalend voor de hoeveelheid kracht die door het implantaat op de wervelkolom uitgeoefend wordt, en daarmee ook bepalend voor de werkzaamheid. Door enkel mannelijke dieren in te zetten wordt deze belangrijke variabele zoveel mogelijk gestandaardiseerd, en ook het benodigde aantal dieren per groep geminimaliseerd. Daarnaast groeien mannelijke Göttinger minivarkens sneller dan vrouwelijke dieren. Dat heeft als voordeel dat een implantaat in een korter tijdsbestek zodanig uitgerekt wordt dat voldoende kracht op de wervelkolom uitgeoefend wordt om scoliose te kunnen induceren (fase 1). De duur van het experiment kan op deze wijze verkort worden. Tenslotte hebben eerste metingen uitgewezen dat de groeicurve van de wervelkolom van mannelijke Göttinger minivarkens vergelijkbaar is met de groeicurve van de wervelkolom van kinderen. De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager met bovenstaande argumenten in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd dat het, om de doelstellingen te bereiken, noodzakelijk is om de proeven met alleen mannelijke dieren uit te voeren.

19. De dieren worden in het kader van het project gedood, omdat de doelstellingen van het project alleen behaald kunnen worden met behulp van uitgebreide analyse van het implantaat en het omliggende weefsel. De dieren worden volgens een passende en in bijlage IV van de richtlijn genoemde methode gedood.
20. Omdat in het projectvoorstel minivarkens worden aangevraagd is de vraag over herplaatsing/hergebruik niet van toepassing.

*NTS*

21. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

#### **D. Ethische afweging**

1. De centrale morele vraag luidt: rechtvaardigt het directe doel van het project (het in kaart brengen van de werkzaamheid van een nieuw type implantaat met betrekking tot de reductie van geïnduceerde scoliose in minivarkens) en het uiteindelijke doel (de ontwikkeling van een nieuw type implantaat voor de behandeling van scoliose bij kinderen), gezien de hoge waarschijnlijkheid dat de doelstellingen behaald worden, het matige ongerief dat de dieren wordt aangedaan in het voorliggende project?
2. Waarden die voor proefdieren in het geding zijn: matig nadeel. Waarden die voor het onderzoeksveld en de industrie worden bevorderd: gering voordeel. Waarden die voor de patiënten worden bevorderd: veel voordeel. De DEC is van mening dat de belangen van de patiënten in dit project zwaarder wegen dan de belangen/waarden van de proefdieren. Het feit dat de waarden voor het onderzoeksveld en de industrie door dit project worden bevorderd speelde voor de DEC bij het maken van de ethische afweging geen rol van betekenis. Indien de hierboven genoemde doelstelling behaald wordt, dan zal dit project bijdragen aan de ontwikkeling van een nieuw type implantaat voor de behandeling van scoliose bij kinderen. De patiënten zouden er zeer bij gebaat zijn wanneer dit nieuwe type implantaat gebruikt kan worden, omdat de huidige implantaten niet mee kunnen groeien met de patiënt. In de huidige situatie is het daarom noodzakelijk om gedurende de groei twee keer per jaar een heroperatie uit te voeren. Dergelijke belastende operaties zijn met het nieuwe type implantaat niet meer nodig. Daarmee kan het ongerief ten gevolge van de behandeling van scoliose met het nieuwe type implantaat voor de patiënt beduidend lager worden vergeleken met de huidige situatie. Het is aannemelijk dat de doelstellingen behaald zullen worden, en de onderzoekers doen er alles aan om ongerief voor de dieren tot een minimum te beperken.
3. De DEC is overtuigd van het belang van de doelstellingen: het in kaart brengen van de werkzaamheid van een nieuw type implantaat met betrekking tot de reductie van geïnduceerde scoliose in minivarkens, met als uiteindelijke doel de ontwikkeling van een nieuw type

implantaat voor de behandeling van scoliose bij kinderen. De DEC is van mening dat de waarden die voor de patiënten bevorderd kunnen worden zwaarder wegen dan de waarden die voor de proefdieren in het geding zijn. De DEC is van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstellingen binnen het kader van het project. De DEC is er verder van overtuigd dat de aanvrager voldoende kennis en kunde heeft om de doelstellingen te behalen, om te kunnen voldoen aan de 3V-beginselen en om te kunnen voorkomen dat mens, dier en milieu negatieve effecten ondervinden als gevolg van de dierproeven. De DEC is ook van mening dat de aanvrager voldoende maatregelen treft om het ongerief en het aantal dieren tot een minimum te beperken. Dit alles brengt de DEC tot het oordeel dat het belang van de doelstelling opweegt tegen het matige ongerief dat de dieren zullen ondervinden, en dat de doelstellingen het gebruik van proefdieren rechtvaardigen.

### **E. Advies**

1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

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

De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3. Er zijn geen knelpunten/dilemma's naar voren gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UMC Utrecht

Postbus 12007 t.a.v. Instantie voor Dierenwelzijn  
Utrecht  
3501 AA UTRECHT



**Centrale Commissie  
Dierproeven**

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

**Onze referentie**

Aanvraagnummer  
AVD115002016804

**Bijlagen**

2

Datum 23 december 2016

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 22 december 2016. Het gaat om uw project "Animal study to test spring based induction and reduction of spinal deformities". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD115002016804. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

**Wacht met de uitvoering van uw project**

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

**Factuur**

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

**Meer informatie**

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

**Datum:**

23 december 2016

**Aanvraagnummer:**

AVD115002016804

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur



**Datum:**  
23 december 2016  
**Aanvraagnummer:**  
AVD115002016804

### **Gegevens aanvrager**

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 11500  
Naam instelling of organisatie: UMC Utrecht  
Naam portefeuillehouder of  
diens gemachtigde: ██████████  
KvK-nummer: 30244197  
Postcode en plaats: 3501AA UTRECHT  
IBAN: NL27INGB0000425267  
Tenaamstelling van het  
rekeningnummer: Universiteit Utrecht

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: ██████████  
Functie: PhD student  
Afdeling: ██████████  
Telefoonnummer: ██████████  
E-mailadres: ██████████

**Datum:**  
23 december 2016  
**Aanvraagnummer:**  
AVD115002016804

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

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

**Over uw aanvraag**

Wat voor aanvraag doet u?  Nieuwe aanvraag  
 Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn  
 Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

**Over uw project**

Geplande startdatum: 1 januari 2017  
Geplande einddatum: 1 januari 2022  
Titel project: Animal study to test spring based induction and reduction of spinal deformities  
Titel niet-technische samenvatting: Dierstudie om de inductie en reductie van groeiafwijkingen van de rug te onderzoeken met veerkrachten  
Naam DEC: DEC Utrecht  
Postadres DEC: Postbus 85500 3508 GA Utrecht  
E-mailadres DEC: dec-utrecht@umcutrecht.nl

**Betaalgegevens**

De leges bedragen: € 935,-  
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

**Checklist bijlagen**

Verplichte bijlagen:  Projectvoorstel  
 Beschrijving Dierproeven  
 Niet-technische samenvatting  
Overige bijlagen:  DEC-advies

**Ondertekening**

Naam: [REDACTED]  
Functie: [REDACTED]  
Plaats: Utrecht  
Datum: 19 december 2016

**Datum:**  
23 december 2016  
**Aanvraagnummer:**  
AVD115002016804



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UU-ASC  
Postbus 80.011  
3508 TA UTRECHT  


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

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD115002016804  
**Bijlagen**  
2

Datum 23 december 2016  
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**  
Factuurdatum: 23 december 2016  
Vervaldatum: 22 januari 2017  
Factuurnummer: 16700804  
Ordernummer: CB.841910.3.01.011

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD115002016804	€ 935,00

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

**Van:** [REDACTED] namens dec-utrecht <dec-utrecht@umcutrecht.nl>  
**Verzonden:** dinsdag 24 januari 2017 14:21  
**Aan:** 'Info-zbo'  
**Onderwerp:** Diermodellen scoliose projecten

Beste [REDACTED]

Uw opmerking/verbazing betreffende de keuze van twee verschillende modellen voor scoliose onderzoek, nl. de rat en de mini pig in twee verschillende projecten uit dezelfde onderzoeksgroep, is naar de mening van de DEC als volgt te verklaren.

Het eerst ingediende en toegekende project (uw ref. AVD115002016564) is een onderzoek naar de etiologie van scoliose en is derhalve conform opgave van de onderzoeker fundamenteel van aard. Indien de resultaten daartoe aanleiding geven, is er wellicht uitzicht op nieuwe behandel mogelijkheden of op het voorkomen van progressie van de afwijkingen (preventie) maar zover is het nog niet. Voor dergelijk onderzoek dat nog in de fase zit van trial and error is de rat, ook internationaal, het aangewezen model.

Het voorliggende onderzoek (onze ref. 2016.II.548.025) daarentegen bevindt zich in een geheel andere fase en zit dicht aan tegen klinische toepassing en is derhalve te karakteriseren als Translationeel onderzoek. De onderzoekers kiezen daarom voor een diermodel dat hanteerbaar is en waarin de groeisnelheid, gezien de uitleesparameter, constant is en vergelijkbaar met die bij jonge kinderen. Naar de mening van de DEC is de keuze voor de mini pig uitstekend beargumenteerd en onderbouwd.

Concluderend: de keuze van de diermodellen is gebaseerd op (het karakter van) de vraagstellingen die wezenlijk verschillend zijn in de desbetreffende projecten.

Indien U nog aanvullende vragen hebt, zijn we gaarne bereid deze te beantwoorden.

Met vriendelijke groeten,

[REDACTED]



Secretaris DEC Utrecht | Raad van Bestuur, Kwaliteit en Patient Veiligheid, Bureau Toetsing van Onderzoek  
Universitair Medisch Centrum Utrecht | Kamernummer C01.314 | Huispostnummer D01.343 | Postbus 85500 | 3508 GA UTRECHT  
T: +31 88 75 592 47 | [www.umcutrecht.nl](http://www.umcutrecht.nl) | Werkdagen: ma, di, woe, do

De informatie opgenomen in dit bericht kan vertrouwelijk zijn en is uitsluitend bestemd voor de geadresseerde. Indien u dit bericht onterecht ontvangt, wordt u verzocht de inhoud niet te gebruiken en de afzender direct te informeren door het bericht te retourneren. Het Universitair Medisch Centrum Utrecht is een publiekrechtelijke rechtspersoon in de zin van de W.H.W. (Wet Hoger Onderwijs en Wetenschappelijk Onderzoek) en staat geregistreerd bij de Kamer van Koophandel voor Midden-Nederland onder nr. 30244197.

 Denk s.v.p. aan het milieu voor u deze e-mail afdrukt.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UMC Utrecht

Postbus 12007  
Utrecht  
3501 AA UTRECHT  


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

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD115002016804  
**Bijlagen**  
1

Datum 1 februari 2017  
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 

Op 22 december 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Animal study to test spring based induction and reduction of spinal deformities" met aanvraagnummer AVD115002016804. 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.

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

U kunt met uw project "Animal study to test spring based induction and reduction of spinal deformities" starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 februari 2017 tot en met 1 januari 2022. De looptijd van de vergunning wijkt af omdat de startdatum in de aanvraag in het verleden ligt.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

#### **Procedure**

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC Utrecht gevoegd. Dit advies is opgesteld op 19 december 2016. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

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

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

**Datum:**  
1 februari 2017  
**Aanvraagnummer:**  
AVD115002016804

### **Bezwaar**

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

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

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

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

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

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

### **Meer informatie**

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

Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze

ir. G. de Reuter  
Algemeen Secretaris

### **Bijlagen:**

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



# Projectvergunning

## gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

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

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 februari 2017 tot en met 1 januari 2022, voor het project "Animal study to test spring based induction and reduction of spinal deformities" met aanvraagnummer AVD115002016804, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC Utrecht. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is PhD student.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 22 december 2016
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 22 december 2016;
  - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 22 december 2016;
  - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 19 december 2016, ontvangen op 22 december 2016.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
<b>3.4.4.1 Animal study to test spring based induction and reduction of spinal deformities.</b>				
	Andere zoogdieren (andere Mammalia) / Gottingen minipigs	92	100% Matig	

### Voorwaarden

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

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

In artikel 10, lid 1 sub a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is.



**Aanvraagnummer:**

AVD115002016804

Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in afstemming met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.



**Aanvraagnummer:**

AVD115002016804

## Weergave wet- en regelgeving

### **Dit project en wijzigingen**

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

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

### **Verzorging**

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

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

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

### **Pijnbestrijding en verdoving**

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

**Aanvraagnummer:**

AVD115002016804

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 blijven schade zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand.

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

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

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

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