

Inventaris Wob-verzoek W17-09									
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	<b>NTS2017844</b>								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel				x		x	x	
3	Niet-technische samenvatting	x							
4	Bijlage beschrijving dierproeven				x		x	x	
5	Appendix			x					
6	DEC-advies				x		x	x	
7	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
8	Advies CCD		x						x
9	Beschikking en vergunning				x		x		



16 FEB. 2017

## Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

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

### 1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in   11800 <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	Academic Medical Center Amsterdam
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	3 4 3 3 6 2 7 7 7
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	Meibergdreef 31
		Postbus	
		Postcode en plaats	1105AZ Amsterdam
		IBAN	NL68RABO0136166741
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Zie bijgesloten procedure voor betaling AMC
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
		Functie	Principal Investigator/Onderzoeker
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
		Functie	Promovenda / basisarts
		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?
- |                                                                                                                 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Ja > Stuur dan het ingevulde formulier <i>Melding Machtiging mee met deze aanvraag</i> |
| <input checked="" type="checkbox"/> Nee                                                                         |

## 2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- |                                                                                                                                                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3                                                                                                             |
| <input type="checkbox"/> Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn<br>Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2    |
| <input type="checkbox"/> Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn<br>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?
- |                                                                                                                                                                                              |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier |
| <input type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3                                                                                                                                         |
- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- |                                                                                        |
|----------------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3                                   |
| <input type="checkbox"/> 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 | 0 1 . 0 4 . 2 0 1 7 |
| Einddatum  | 0 1 . 0 4 . 2 0 2 1 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- |                                                          |
|----------------------------------------------------------|
| In-situ tissue engineering of cardiovascular constructs. |
|----------------------------------------------------------|
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- |                                                      |
|------------------------------------------------------|
| In-situ weefsel formatie voor hart- en vaatprotheses |
|------------------------------------------------------|
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- |             |                 |
|-------------|-----------------|
| Naam DEC    | DEC AMC         |
| Postadres   | Meibergdreef 31 |
| E-mailadres |                 |

## 4 Betaalgegevens

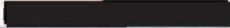
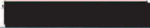

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1035.00 Lege  
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.  
*Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven 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 1.6). De ondergetekende verklaart:
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
  - dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
  - dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
  - dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
  - dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam	
Functie	
Plaats	Amsterdam
Datum	10 - 02 - 2017
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

#### 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 animal health 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

The three major topics of cardiovascular disease (CVD) are heart valve disease, vascular disease and congenital heart disease. Each of them is subject to specific limitations in surgical treatment with current available substitutes. In this project we focus on an innovative surgical therapy for vascular disease. However, the obtained results can provide contribution to whole field.

Cardiovascular disease represents a major global health burden [1] There are increasing numbers of elderly patients with degenerative cardiovascular disease and there is a growing population of patients with grown up congenital heart (GUCH) disease. Treatments of CVD range from dietary and lifestyle modifications to pharmaceutical and surgical interventions.

A substantial amount of CVD is related to atherosclerosis. Once narrowing of an artery reaches the point where peripheral tissue



becomes ischemic, the most common form of treatment consists of either bypass grafting or endovascular angioplasty. Every year approximately 750,000 coronary artery bypass graft procedures are performed in Europe and the United States of America combined. [1] The number of surgical procedures performed for the treatment of atherosclerosis of small and large caliber peripheral vessels is estimated to be even higher.

Although autologous vascular tissue is the preferred tissue for the treatment of atherosclerotic vascular disease, many patients in need of such surgery are found ineligible due to the quality of their native vessels, because of diffuse atherosclerotic disease, or because of the use of these vessels in previous surgery. Furthermore, the removal of vasculature from its anatomical position is undesirable, especially in patients with atherosclerotic cardiovascular disease. Thus, there is a critical need for suitable small diameter vascular prostheses for the replacement of small caliber blood vessels, such as coronary arteries and lower-limb peripheral vessels.

Previous attempts to create a blood vessel substitute have focused on the use of prosthetic grafts created from synthetic materials, such as expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) or PTFE. These are proven to show potential in the replacement of large caliber vessels (>6 mm diameter) [2]. Consequently high blood flow and low resistance minimalizes the risk of graft thrombosis. However, vessel diameters in the coronary system are much smaller (approximately 1 to 3 millimeter) and therefore more prone to thrombotic events closing off the grafts. With reported patency rates of 40% at 6 months and 25% at 3 years, patency of these small-caliber synthetic grafts. Therefore insufficient and not suitable for clinical use [3, 4].

The ideal vascular graft has the same properties as healthy native tissue. However, the current available prosthetic cardiovascular substitutes are non-viable structures and, therefore, do not have the ability to grow, repair or adjust to functional demand changes. In patients with congenital heart or vascular disease who have survived into adulthood, a prosthetic-patient mismatch will develop by growth of the patient and may lead to multiple surgical re-interventions during life.[5]

Living, tissue engineered substitutes may overcome the mentioned limitations [6]. Within this field of regenerative medicine, cardiovascular substitutes can be created of viable tissue of patients' own cells. With the potential to grow, repair and adapt on environmental changes.

The classical tissue-engineering paradigm involves harvesting of autologous cells, cell expansion, cell seeding onto a biodegradable implants (called scaffold) and bioreactor culture prior to implantation. Also called as the *in-vitro* approach. However, this remains a time consuming and relatively expensive process.

Within an *in-vivo (in-situ)* tissue engineering approach, harvesting of autologous cells, cell expansion and tissue growth onto a biodegradable scaffold will take place in the (patients) body. Here, the main principle is to create a temporary scaffold through which *in-vivo* tissue ingrowth can replace the scaffold, leaving a complete biological vascular conduit in time [7, 8]. With this method the risk of contamination and costs at the expensive *in-vitro* preparation period are reduced. Moreover, no cell-harvesting intervention is needed for the patient; the scaffold is available *of-the-shelf*.

Biological and synthetic based scaffolds are designed to replace the diseased (e.g. stenotic vessels) tissue. There they function as a tissue-forming device. Optional, they can facilitate the delivery of cells or drugs and provides structural support to the cells and forms an environmental niche that determines cell fate. However, recently it is suggested that, even without pre-seeding with cells or drugs, mature tissue may be obtained via an inflammation-mediated process [9, 10]. Therefore, bare, non-seeded scaffolds have potential for as tissue engineered construct and are widely subject of investigation.

Biological scaffolds consist of biopolymers such as collagen, fibronectin or chitosan, or decellularized vascular constructs. These scaffolds provide the proper biological environment and matrix organization, but often lack the appropriate mechanical properties.[11, 12] Moreover are these are non-degradable and show batch-to-batch differences. Importantly, cross-linking strategies to improve mechanical performance often require cytotoxic conditions limiting a viable interaction with cells in these grafts, and therefore their widespread use in the clinic.

Synthetic scaffolds are made of single or multi polymer blends (e.g. poly-ε-caprolactone (PCL) or Polylactide (PLA) ) They have the advantage that microstructure, strength, and speed of the fibre degradation can be tuned during production. Moreover, The scientific field get more and more insight in the effect on cell behaviour by environmental cues, [13-16] like the material (fibre dimensions, surface, porosity, degradation velocity) [17] and design (e.g. multi-layered) [18]. They play a crucial roll in cell differentiation and consequently tissue formation and his characteristics. With a better understanding of the interaction between cells and scaffold architecture we can work towards a safe and even patient-specific desired scaffold.

Safe clinical use requires a delicate balance between scaffold degradation and tissue formation, without loss of strength or patency. Scaffold resorption should be mainly cell driven, meaning that the scaffold only degrade, and thus lose strength and durability, when sufficient extracellular matrix has been synthesized by the cells to take over mechanical functionality.

## PREVIOUS WORK.

The present study is part of the [REDACTED] research project: [REDACTED]. Within the [REDACTED] Consortium we are testing various synthetic scaffold materials for *in vivo* research of cardiovascular prostheses (e.g. scaffolds for *in situ* tissue engineering of small diameter vessels and heart valve prostheses).

During the past years, we developed a library of biodegradable synthetic materials (e.g. [REDACTED]) that can be functionalized with and without bioactive additives [20, 21]. After *in-vitro* experiment the most promising materials were tested *in-vivo* (small and large animals)

There, [REDACTED] material demonstrated sustained functionality up to 12 months, while the implant was gradually replaced by a layered collagen and elastic matrix in pace with cell-driven polymer resorption [22]. However, degradation of the polymer was not complete after 12 months. This is important, as we know largely from orthopedic implants that small debris particles can activate macrophages, and lead to an immune response later in the life of an implant [23, 24]. These effects may also play a role in a cardiovascular setting, making full degradation of the implant an important feature, as remaining polymeric material could potentially initiate a secondary immune response originating from the remaining scaffold. Moreover, in developing constructs for children with congenital heart disease, the capacity to growth and remodel is essential. The formation of polymer-free neo-tissue, in time, can be crucial.

However, the results were in sharp contrast to our *in vivo* rat-studies of a comparable [REDACTED] which degrades rapidly (approx. 1-2 month) which was not enough for tissue formation. However, the neo-vessel showed aneurysmal dilatation and loss of strength (publication in progress).

Therefore we developed two polymers with intermediate degradation kinetics. These showed *in-vitro* intermediate degradation velocity, compared to the mentioned materials above. In this proposal we focus on the aspect of degradation and the effect on matrix formation at the (neo) vascular wall of these two materials.

---

### 3.2 Purpose

The objective of the present study is to assess the influence of varying the degradation velocity of a scaffold material on tissue formation and strength.

The following research questions will be addressed:

1. If we vary the scaffold degradation property, does it influence the architecture of tissue formation?
2. What is the influence of scaffold kinetics on the strength of the tissue that is formed?

---

### 3.3 Relevance

#### SCIENTIFIC RELEVANCE.

The results of the proposed studies will contribute basic scientific knowledge in the field of *in-situ* tissue engineering with synthetic bare scaffolds. Outcomes of the study contain insight in the influences of scaffold degradation on tissue formation. Results will help in developing tailored made scaffold material for site-specific conditions thereafter.

#### PUBLIC RELEVANCE.

Cardiovascular diseases are the leading cause of death worldwide and affect millions of people. In Europe, 4 million deaths are related to cardiovascular diseases. With the increasing numbers of elderly patients the amount of patients in need of surgical treatment for cardiovascular disease will raise. As mentioned above, current available cardiovascular substitutes have major drawbacks.

Additionally, in 2012 the Dutch government has started the discussion about the affordability of health care and the need for drastic measures to contain costs. One of the proposed ways to reduce costs is to increase the efficiency of care. Given the high costs associated with cardiovascular surgery procedure, there is an urgent need to explore the individual patient risks and benefits but also costs for society of currently available treatment strategies for patients with severe CVD and at the same time explore the requirements of innovations that aim to improve current treatment, such as tissue engineered vascular substitutes. Moreover, current cardiovascular related surgical interventions are widely available in the developed world, but they are less suitable for patients in the developing world due to their age profile and socio-economic circumstances [25, 26].

---

### 3.4 Research strategy

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

After in vitro assessments (e.g. cytotoxic and degradation assessments, blood culturing, fatigue resistance tests), questions regarding the developed scaffolds degradation characteristics will be answered in small animals (this proposal) Therefore two new synthetic scaffold materials will be tested and one control material. Our research model for in vivo research of cardiovascular prostheses resembles the human situation [27, 28]. It enables us to study circulating cells as predominant pathway of cellularization, neo-tissue formation and scaffold degradation in a long-term follow-up experiment.

#### 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.

The present proposal involves only one single experiment. We will use an established rat model: the abdominal aortic interposition graft model. Our group has a lot of experience with this model [redacted] and has modified it in such a way that transanastomotic cell ingrowth does not take place (grafts will be shielded by a layer of Gore-Tex)[27, 28].

After implantation of a vascular graft, transanastomotic and transmural ingrowth of endothelial- and smooth muscle cells appears to be the main source of tissue forming cells in (small) animal models. In the human situation however, transanastomotic neo-tissue formation is typically restricted to the immediate peri-anastomotic region, which makes transanastomotic endothelialization clinically less relevant. We developed a rat model based on the traditional abdominal aortic interposition graft.

However, the protocol provides a more relevant platform to study the regeneration process in a preclinical setting as we block the transanastomotic and the transmural migration of cells into the graft using a Gore-Tex sheet, which serves as a barrier for cellular infiltration from adjacent tissues. This enables us to study circulating cells as the predominant pathway of cellularization and neo-tissue formation, without being obscured by the default rodent-specific mechanisms of ingrowth from adjacent tissues.

Within this proposal, small vascular grafts made of polymers with *different degradation properties* will be implanted. At several time points after surgery, animals will be sacrificed and histopathological examination will be performed as well as tests to assess the presence of scaffold material. Maximum follow up time is 10 months. (See appendix Figure 1-2).

#### 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.

As stated above this experiment is a single experiment were three different grafts with *different degradation profiles* of the scaffolds will be compared in long-term follow-up.

#### 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	Abdominal Aorta interposition grafts replacement in rats

### REFERENCES

1. Roger, V.L., et al., *Executive summary: heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association*. Circulation, 2012. **125**(1): p. 188-97.
2. Xue, L. and H.P. Greisler, *Biomaterials in the development and future of vascular grafts*. J Vasc Surg, 2003. **37**(2): p. 472-80.
3. Chlupac, J., E. Filova, and L. Bacakova, *Blood vessel replacement: 50 years of development and tissue engineering paradigms in vascular surgery*. Physiol Res, 2009. **58 Suppl 2**: p. S119-39.
4. Thottappillil, N. and P.D. Nair, *Scaffolds in vascular regeneration: current status*. Vasc Health Risk Manag, 2015. **11**: p. 79-91.
5. Schultz, A.H. and G. Wernovsky, *Late outcomes in patients with surgically treated congenital heart disease*. Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu, 2005: p. 145-56.
6. Yacoub, M.H. and J.J. Takkenberg, *Will heart valve tissue engineering change the world?* Nat Clin Pract Cardiovasc Med, 2005. **2**(2): p. 60-1.



7. Bergmeister, H., et al., *Biodegradable, thermoplastic polyurethane grafts for small diameter vascular replacements*. Acta Biomater, 2015. **11**: p. 104-13.

8. Xu, X.F., et al., *A novel surgical procedure: scaffold-pulmonary autograft transplantation*. International journal of clinical and experimental medicine, 2013. **6**(8): p. 662-6.

9. Roh, J.D., et al., *Tissue-engineered vascular grafts transform into mature blood vessels via an inflammation-mediated process of vascular remodeling*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(10): p. 4669-74.

10. Franz, S., et al., *Immune responses to implants - a review of the implications for the design of immunomodulatory biomaterials*. Biomaterials, 2011. **32**(28): p. 6692-709.

11. Li, M., et al., *Electrospun protein fibers as matrices for tissue engineering*. Biomaterials, 2005. **26**(30): p. 5999-6008.

12. Buttafoco, L., et al., *Physical characterization of vascular grafts cultured in a bioreactor*. Biomaterials, 2006. **27**(11): p. 2380-9.

█

█

█

15. Ciobanasu, C., B. Faivre, and C. Le Clainche, *Integrating actin dynamics, mechanotransduction and integrin activation: the multiple functions of actin binding proteins in focal adhesions*. Eur J Cell Biol, 2013. **92**(10-11): p. 339-48.

16. Geiger, B., J.P. Spatz, and A.D. Bershadsky, *Environmental sensing through focal adhesions*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2009. **10**(1): p. 21-33.

█

█

█

18. Tamiello, C., et al., *Heading in the Right Direction: Understanding Cellular Orientation Responses to Complex Biophysical Environments*. Cell Mol Bioeng, 2016. **9**: p. 12-37.

█

█

█

█

█

█

23. Nich, C., et al., *Macrophages-Key cells in the response to wear debris from joint replacements*. J Biomed Mater Res A, 2013. **101**(10): p. 3033-45.

24. Hallab, N.J., *Biologic Responses to Orthopedic Implants: Innate and Adaptive Immune Responses to Implant Debris*. Spine (Phila Pa 1976), 2016. **41 Suppl 7**: p. S30-1.

25. Zilla, P., et al., *Prosthetic heart valves: catering for the few*. Biomaterials, 2008. **29**(4): p. 385-406.

26. al., A.T.F.M.e., *Guidelines on the management of valvular heart disease (version 2012): The Joint Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS)*. Eur Heart J, 2012.

█

█

█

█



## 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'.	11800	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Academic medical center Amsterdam	
1.3	List the serial number and type of animal procedure.	Serial number	Type of animal procedure
		1	Abdominal vascular interposition graft replacement in rats

*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

Synthetic biodegradable vascular grafts<sup>1</sup> will be implanted in the abdominal position in rats to induce vascular tissue formation *in-vivo* (*in-situ* tissue engineering) by circulating cells only. We will use 3 different vascular grafts (scaffold-1, scaffold-2, scaffold-3) that are made of materials that differ regarding their degradation velocity. The graft is wrapped with Gore-Tex to prevent transmural and transanastomotic ingrowth of cells. Consequently only circulating cells (and not transanastomotic ingrowth) contribute to tissue formation<sup>2</sup>.

Outcome parameters are the architecture and strength of tissue formation. This will be assessed by histological examination and strength tests (performed in [REDACTED]). This will be related to the degradation (and thus presence) of scaffold material (tests performed in [REDACTED]). Before sacrifice the animals will undergo MRI with contrast to determine patency of the graft.

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

#### ANIMAL PROCEDURE

All rats will receive an interposition vascular graft implantation replacing part of the abdominal aorta. The animals are deeply anesthetized. The segment of the abdominal aorta between the renal arteries and the aortic bifurcation will be replaced. After transection of the aorta a 15 mm length interposition graft will be implanted using interrupted sutures. The grafts are shielded with Gore-Tex, as described and validated by our colleague.<sup>2</sup> (See addendum- figure 2)

On the day of explantation, animals will be fully anaesthetized. A MRI scan will be conducted. Thereafter we will sacrifice the animals to collect the vascular scaffold, the heart, liver, brain and lungs for analysis. (Thromboembolic and inflammatory control).

#### FOLLOW-UP

The animals will be terminated at five time points, the vascular grafts will be explanted and analysed (see table 1 and addendum fig.1). The chosen time points are based on the degradation profile and immune response. Foreign body implantation induces an immune response. This is the main driven factor for cell attraction in neo-tissue formation of the blood vessel. The first time point (7 days) enables us to study this acute inflammatory response in the implants by histology. (e.g. macrophages, monocytes, neutrophils infiltration.). Thereafter at 6 weeks and 3 months we can analyse the start of degradation and remodelling phase and endothelialisation.<sup>2</sup> For analysis of the vascular strength of the three different grafts the later time points are crucial.

Follow-up Experimental group	7 Days	6 weeks	3 months	6 months	10 months	(n)
Scaffold-1 (n)	4	4	4	4	4	20
Scaffold-2 (n)	4	4	4	4	4	20
Scaffold-3 (n)	4	4	4	4	4	20
Drop-off (n)	3	3	3	3	6	18
Training (n)	-	-	-	-	-	4
<b>Total (n)</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>18</b>	<b>82</b>

Table 1: sample size

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

Previously, our own investigator group performed an *in-vitro* experiment with the three scaffolds as mentioned before, showing differences in the degradation properties of biodegradable materials. This *in-vitro* experiment focused on a single degradation pathway, comprising both the hydrolytic and oxidative pathways. However, for the proposed *in-vivo* experiment it is of importance to assess either the enzyme-accelerated hydrolytic and the oxidative degradation pathways, since both pathways may individually affect the implanted scaffold. Hence, our *in-vitro* results cannot be used in the sample size calculation our estimation of an effect size for clinical supposes. To estimate the number of animals, we will base the sample size calculation on former results in current literature<sup>2-4</sup>. Groups of 4 animals per time point were significant to show differences of immuuncel influx, tissue formation (endothelialization, collagen formation e.g.) in comparable materials ( $p < 0.005$ )

In addition, they experienced 15-20% failure due to operative complication or loss of material post-mortem (e.g. difficulties of cutting GoreTex wrapped grafts). Moreover, at the later follow-up time animals reach age of 12 months old. We expect more drop-off of animals at older age. Therefor 3 extra animals are needed at older age. For training of the procedure 4 animals are requested. Training of the procedure will be performed previously on the experiment under supervision of experience researchers. First starting with rat the so-called 'plastinates' (dry specimens,) Thereafter on, if vailable, surplus animals.

## B. The animals

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

### SPECIES: Rat

The dimensions of the rat abdominal aorta (2-4 mm diameter) are comparable with the dimensions of the human coronary artery. In the model we can acquire proper amount of explant material length and diameter in the rat.

Surgical replacement of the GoreTex wrapped interposition graft is not possible in smaller animals.

### ORIGIN: Outbred- Sprague Dawley Rats

In this study an outbred strain Sprague-Dawley rats will be used. Previous related experiments of our group are conducted with the same species.<sup>1,5</sup> Moreover, the Sprague-Dawley rat is well accepted by the scientific community for cardiovascular research in the field of tissue engineering. Findings of this study can be translated towards previous rat-studies of tissue engineered vascular prostheses.

**GENDER: Male**

We will use male rats only. The abdominal aorta of Sprague Dawley male rats is comparable with the available size of the vascular grafts (1,8mm – 2,0 mm diameter). Matching the size of native vessel and scaffold implant is important for bloodflow and shear stress at the trananastomotic region.

However we are aware of the influence of gender on heart disease in humans, this is unknown in rats. With male rats, we avoid the risk of hormonal influence on cell recruitment. Moreover, this is not in the scope of our research.

**LIFE STAGES:**

8-10 weeks old rats will be used, where plateauing of growth curve is started<sup>6</sup>

**ESTIMATED NUMBERS:**

A number of 82 animals is requested (See table 1) Four extra animals are requested for training, which can be surplus animals. Cause the animals will be in the study for (maximum) of 10 months, part of the animals will be old at the end of the study. We expect to have more drop-off in the long-term follow-up groups. Therefore 3 extra animals are requested on the latest follow-up point.

**C. Re-use**

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

**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**

Prior to *in-vivo* experiments our partner university in Eindhoven has performed a set of *in-vitro* experiment. This includes hemodynamic stretch tests, *in-silico* modelling, mesofluid-based tests and migration assays of the scaffold material and tissue formation. Moreover, to mimic natural environment, *in-vitro* experiments were conducted in bioreactors. Bioreactor systems provide both the technological means to reveal fundamental mechanisms of cell function in a 3D environment, and the potential to improve the quality of engineered tissues by enabling reproducible and controlled changes of specific environmental factors. A variety of bioreactors at our partner university allow us to study cell and tissue responses prior to *in-vivo* experiments. This will select the desired scaffolds prior to *in-vivo* experiments. Some research question can already be answered with these experiments.

However, hemodynamic variance, metabolism and environmental cues are complex and not yet mimicked in the lab. Most importantly, assessing what tissue will be produced during long follow up times is not possible in an *in vitro* setting. To determine similarity with humans pre-clinical animal studies have to be performed.

**Reduction**

The rat model subscribed in this proposal has been conducted and validated by our research group, previously. The experience from these experiments will contribute to a minimisation of peri- and post-procedural complications

Moreover, the control material (vascular graft; Scaffold type-1) was tested in these experiments. *In-vitro*, scaffold type-1, scaffold type-2 and scaffold type-3 showed no other differences than their degradation kinetics. In respect with our experience with the material we do not expect major complications with respect to biocompatibility, hemodynamic strength and cell infiltration with these.

Complications, other as experienced are therefore reduced, therefore less animals are needed.

Previously on the experiments we will, to train surgical skills on plastinates (dry specimens,) rat.

More-over for training suppose surplus animals can be used, which will reduce the amount of animals in general.

**Refinement**

Surgical procedures will be conducted under general anaesthesia. After the procedure all rats receive analgesics to reduce pain and stress. The animals will be kept in groups in accordance to European regulations.

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

The rats will receive pre- peri and postoperative analgesic treatment for 24 -36 hour.

Pre-operative they will receive opioids (Temgesic sc) and local anesthetic (Lidocaine and bupivacaine)  
During the operation general anesthesia is induced with isoflurane gas.  
Post-operative animals receive painkillers for 24-36 hours (Opioids)

Furthermore, the animals will be kept in groups, have natural environmental enrichment. This will decrease stress.

#### 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.

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.

Operative procedures:

Pre-operative opioids (Temgesic sc) and local anesthetic (Lidocaine and bupivacaine)

During the operation general anesthesia is induced with isoflurane gas.

Post-operative animals receive painkillers for 24-36 hours (Opioids)

The procedure will be performed by educated and certificated staff and researchers in (microsurgical) procedures.

The procedures will be supported by biotechnicians of the animal laboratory.

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

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

Stress, anorexic, inactivity

Explain why these effects may emerge.

Waking up of the surgical procedure induces stress (anxiety)

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

The first hours after the operation, the animals will recover in solitary housing. As soon as possible they will return to the group. This will be indicated, as the rat is active again and can eat independent. (expected within 2-4 hours)

The animal will receive high energetic food and recovery gel. Also the forage can be solved in water for easy digestion.

### 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 following circumstances could arise and should be used to identify the human endpoints.

- 1) Significant amount of weight loss (5% initial weight) and no proper eating behaviour
- 2) withdrawn behaviour
  - inactivity
  - tremor
  - convulsions, as a result of trombotic cerebral events.
  - self-mutilation
- 3) Lesion or infection of the operation wound, (purulent discharge, pus, absces, fever )
- 4) Paralysis of hind legs, caused by trombotic events ( decreased patency of the graft)
- 5) Cerebral complications caused by tromboembolic events
- 6) Serious bleeding (squirted wound or significant hematoma)

Indicate the likely incidence.

### Specific experimental expected circumstances

Previous comparable experiment of our group showed an average of 5-10% complications related to the (surgical) intervention.

### 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').

Induction of anaesthesia – **mild** discomfort caused by stress  
Recovery of the graft implantation – **moderate** discomfort for 4 hours.  
Post operative +1 a 1,5 days - **mild** discomfort for 24-36 hours.

Total expected level of discomfort: **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.

Vascular grafts have to be explanted for histological and immunological analysis



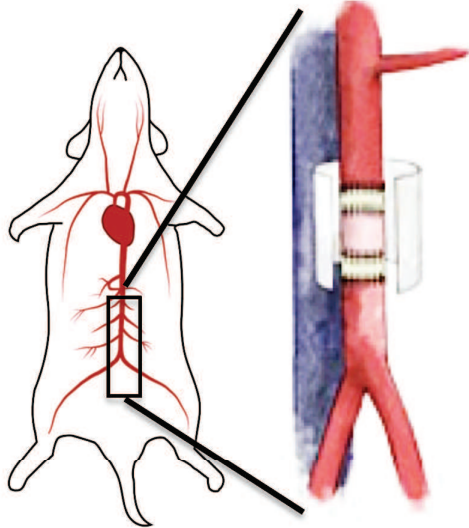
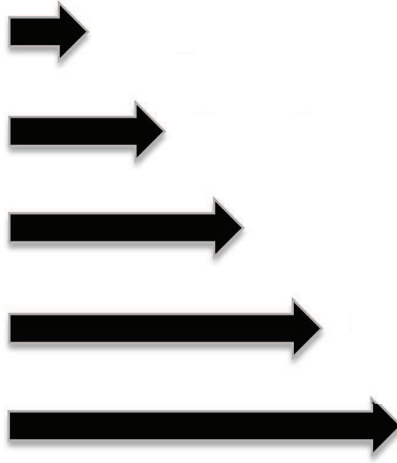
Is the proposed method of killing listed in Annex IV of Directive 2010/63/EU?

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

Yes



5. Rocco KA, Maxfield MW, Best CA, Dean EW and Breuer CK. In vivo applications of electrospun tissue-engineered vascular grafts: a review. *Tissue Eng Part B Rev.* 2014;20:628-40.
6. Envigo - Laboratory animals

**Implantation****Follow-up****Explantation**

7 days

6 weeks

3 months

6 months

10 months

**Group 1, 2 or 3 -**

*Implantation of vascular scaffold type  
1,2 or 3 resp.*

**Analyses of the explant**

*Scaffold cell colonisation  
Vascular matrix organisation  
Scaffold degradation*

Figure 1: **Illustration of the study design**

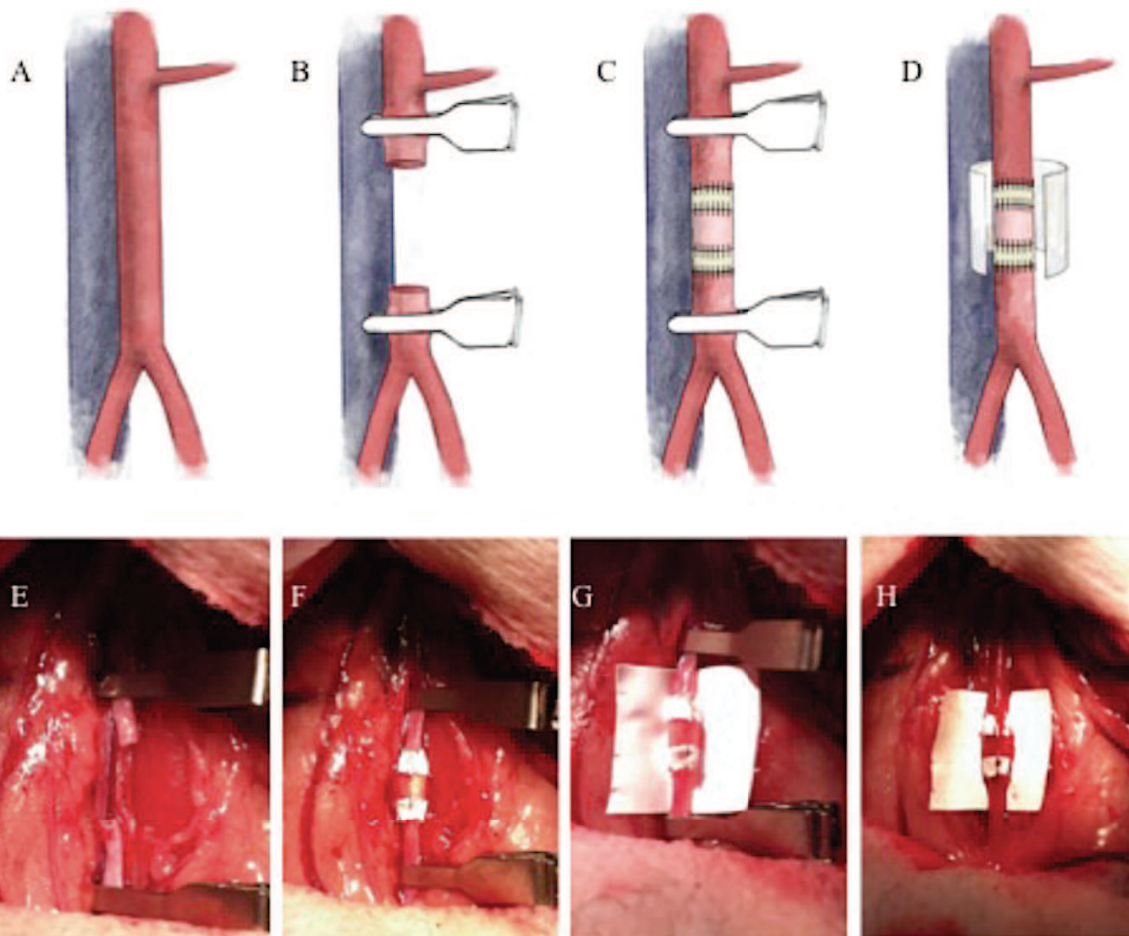


Figure 2: **Illustration and macroscopic images of graft implantation** - Illustration of the aorta before (A), after resection (B), after implantation of the graft (C) and directly after removing the vascular clamp (D). Images after resection (E), after implantation (F), addition of the Gore-Tex sheet (G) and after removal of the vascular clamps (H)



## Format DEC-advies

---

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

### A. Algemene gegevens over de procedure

*Bij de punten 1 t/m 7 dienen altijd de gevraagde gegevens te worden ingevuld.*

1. Aanvraagnummer
2. Titel van het project In-situ tissue engineering of cardiovascular implants
3. Titel van de NTS Gekweekte lichaamseigen bloedvaten vervangen zieke bloedvaten
4. Type aanvraag:
  - nieuwe aanvraag projectvergunning
  - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
  - naam DEC DEC-AMC
  - telefoonnummer contactpersoon 
  - e-mailadres contactpersoon 
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
  - ontvangen door DEC
  - aanvraag compleet
  - in vergadering besproken 26-01-2017
  - anderszins behandeld
  - termijnonderbreking(en) van / tot
  - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
  - aanpassing aanvraag
  - advies aan CCD
7. Afstemming IvD
 

De relevante onderdelen van de vergunningaanvraag (projectvoorstel en bijlagen) zijn in een traject voorafgaand aan de indiening ervan bij de DEC in overleg met de IvD tot stand gekomen.
8. Eventueel horen van aanvrager n.v.t.
  - Datum
  - Plaats
  - Aantal aanwezige DEC-leden
  - Aanwezige (namens) aanvrager
  - Gestelde vraag / vragen
  - Verstrekt(e) antwoord(en)
  - Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag
9. Correspondentie met de aanvrager n.v.t.
  - Datum
  - Gestelde vraag/vragen
  - Datum antwoord

- Verstrek(e) antwoord(en)
- De antwoorden hebben ~~wel~~niet geleid tot aanpassing van de aanvraag

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

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

## B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is.

>Ja

*Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies.*

2. De aanvraag betreft > een nieuwe aanvraag.

3. Is de DEC competent om hierover te adviseren? > Ja

4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Indien van toepassing, licht toe waarom.

> Nee

## C. Beoordeling (inhoud)

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

Deze aanvraag heeft een concrete doelstelling (het verkrijgen van inzicht in het effect van de afbraaksnelheid van drie verschillende typen kunststof bloedvaten in de vorming en sterkte van nieuw weefsel). De volgende vragen zullen beantwoord worden:  
I) Hangt de opbouw van het nieuwe weefsel af van de afbraaksnelheid van de kunststof bloedvaten?;

II) Wat is de invloed van de afbraaksnelheid van de kunststof bloedvaten op de sterkte van het nieuw gevormde weefsel?

Deze twee vragen zullen in één experiment onderzocht worden.

Het project lijkt haalbaar, afgaande op het voorwerk en de ervaring van deze onderzoekers, de omvang en de aangegeven tijdsspanne.

Het is helder welke handelingen en ongerief individuele dieren zullen ondergaan in de dierproef die nodig is om de subdoelen te bereiken.

Gezien bovenstaande is de DEC van mening dat de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft.

2. Geef aan of er aspecten in deze aanvraag zijn die niet in overeenstemming zijn met wet- en regelgeving anders dan de Wod? Denk hierbij aan bijvoorbeeld de Flora en fauna wet en Wet dieren. Indien van toepassing, leg uit om welke aspecten het gaat en waarom hier sprake van is.

> Niet, voor zover kan worden opgemaakt uit de aanvraag.

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

> De aangekruiste doelcategorieën sluiten aan bij de hoofddoelstelling. Er wordt fundamenteel onderzoek gedaan naar de invloed van de afbraaksnelheid van kunststof bloedvaten op de weefselvorming in het bloedvat. Deze resultaten dragen bij aan de ontwikkeling van beter geschikte kunststof bloedvaten in de behandeling van artherosclerose. Dit maakt het onderzoek zowel fundamenteel als translationeel.

## Belangen en waarden

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

> Het directe doel van het project is het verkrijgen van inzicht in het effect van de afbraaksnelheid van drie typen kunststof bloedvaten in de vorming en sterkte van nieuw weefsel. Het uiteindelijke doel van het project is om het meest geschikte, aangepast aan de specifieke plek, materiaal te kunnen kiezen voor de kunststof bloedvaten. Het directe doel vormt een logisch en onmisbaar deel van de route naar het uiteindelijke doel en heeft daardoor een reële relatie.

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

> De belangrijkste belanghebbenden in dit fundamentele en translationele project dat gericht is op het verkrijgen van meer inzicht in de rol van de afbraaksnelheid van kunststof bloedvaten, zijn de proefdieren, de onderzoekers en de patiënten die aderverkalking ontwikkelen.

Waarden die voor proefdieren in het geding zijn: de dieren zullen beperkt worden in hun natuurlijke gedrag en gedurende de proeven zullen de dieren stress en pijn ondervinden. Waarden die voor de onderzoekers bevorderd worden: zij zullen kennis verkrijgen. Ook zullen de carrièremogelijkheden van de onderzoekers verbeteren door publicaties en mogelijk patenten.

Waarden die voor patiënten met verkalkte slagaders bevorderd worden: het ontwikkelen van kunststof bloedvaten die gebruikt kunnen bij o.a. bypass operaties, als er geen gezonde bloedvaten van de patiënt zelf gebruikt kunnen worden.

6. Geef aan of er sprake kan zijn van substantiële milieueffecten. Zo ja, benoem deze, leg uit waarom daar sprake van kan zijn en of geef aan of deze effecten afgedekt worden door specifieke wetgeving.

> Er is geen sprake van substantiële milieueffecten, voorzover de DEC dit kan overzien.

## Proefopzet en haalbaarheid

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

> De IvD ziet erop toe dat alle personen die bij dit onderzoek betrokken zullen zijn, zowel de analisten en onderzoekers die de experimenten gaan uitvoeren, als de onderzoekers die het project hebben vormgegeven en opgeschreven, voldoen aan de wettelijke eisen van deskundigheid en kennis.

De onderzoeksgroep heeft veel ervaring met onderzoek naar cardiovasculaire regeneratieve weefselontwikkeling. Wij achten de kennis en kunde van de onderzoeksgroep voldoende gewaarborgd.

8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw antwoord toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C6*).

> De opzet van het experiment is logisch en goed te begrijpen. De aangegeven doelstellingen kunnen met deze experimentele aanpak behaald worden.

## Welzijn dieren

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

- 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: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV richtlijn (13c, lid 3)

> Er is geen sprake van bijzondere dieren, omstandigheden of behandelingen.

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de richtlijn. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan omdat het om wetenschappelijke redenen noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht toe waarom wel/niet.

> Er is voldaan aan bijlage III



11. Beoordeel of het ongerief als gevolg van de dierproeven realistisch is ingeschat en geclassificeerd, waarbij uitgegaan wordt van de kans op angst, pijn, stress en/of ziekte bij individuele dieren (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*).
  - > Ongeriefinschatting is in overleg met de IvD tot stand gekomen, met gebruikmaking van de Toelichting Codering Ongerief
  
12. Geef aan op welke wijze de integriteit van de dieren wordt aangetast (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). (*zie bijlage I voor voorbeeld*).
  - > De "heelheid" van het dier wordt niet aangetast zodanig dat sprake is van vermindering of ontneming van soortspecifieke eigenschappen.
  
13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw antwoord toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).
  - > De humane eindpunten zijn helder gedefinieerd (uiterlijke kenmerken/>5%gewichtsverlies ten opzichte van het begingewicht/inactiviteit/trillen/zelfmutilatie/ontsteken van de wond/verlamming achterpoten/bloedingen). De inschatting van het percentage dieren (5-10%) dat naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken is, op basis van ervaring van de onderzoeksgroep, realistisch ingeschat.
  
14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn? Onderbouw uw antwoord (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).
  - > De hemodynamische variatie, metabolisme en stimuli uit de directe omgeving zijn complex en kunnen niet worden nagebootst in een *in vitro* model. Vervanging van de aangevraagde dierproeven is hierdoor niet mogelijk, maar voorafgaand aan deze dierproef is gebruik gemaakt van *in vitro* experimenten met de kunststof bloedvaten om verschillende eigenschappen te onderzoeken.
  
15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Onderbouw uw antwoord (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).
  - > De aantallen dieren zijn ingeschat op basis van groepsgroottes uit eerdere gepubliceerde studies waarin 4 dieren per groep voldoende waren om een verschil aan te tonen in immuun-cel-influx en weefselvorming. Er vond in die studies een uitval plaats van 15-20 %; op basis hiervan wordt er per tijdstip één dier per kunststof bloedvat extra meegenomen. Ook wordt er meer uitval verwacht als de ratten 12 maanden oud zijn. Er worden voor die groep 2 extra dieren per kunststof bloedvat meegenomen. Er wordt een realistische schatting gemaakt voor het aantal dieren dat nodig is om een statistisch significant verschil te behalen.
  
16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd? Licht uw antwoord toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).
  - > In dit project wordt anesthesie toegepast en wordt er pijnstilling gebruikt om pijn en stress te voorkomen. De ratten krijgen geweekt, hoogcalorisch voedsel en een gel die op de bedding geplaatst wordt ten behoeve van sneller herstel na de operatie. De humane eindpunten zijn duidelijk geformuleerd, waarmee de mate van verfijning verder is geborgd.

17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Onderbouw uw antwoord.

> n.v.t.

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

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd? Geef ook aan welke maatregelen verder zijn getroffen om bij fok of aankoop van dieren het aantal in voorraad gedood te beperken (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3; zie bijlage I voor voorbeeld*).

> Alleen mannelijke ratten worden gebruikt. Dit heeft een technische reden. Het is erg belangrijk dat het kunststof bloedvat goed aansluit op het bestaande bloedvat. De aorta's van de mannetjes hebben dezelfde grootte als de kunststof bloedvaten, waarmee deze aansluiting dus beter is dan in vrouwelijke dieren.

19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van de richtlijn. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht dit toe. Indien van toepassing, geeft ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

> De dieren worden in het kader van de proef gedood volgens een methode van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Doden is noodzakelijk omdat in het kader van het experiment de weefsels uit het dier moeten worden gehaald voor analyse.

20. Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is.

> n.v.t.

## NTS

20. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?

> Ja, deze is in overleg met de afdeling communicatie van de vergunninghouder bewerkt met het oog op de begrijpelijkheid.

## D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.A*).

***Rechtvaardigt het verkrijgen van meer inzicht in de rol die de afbraaksnelheid van een kunststof bloedvat speelt in de sterkte en de opbouw van nieuw bloedvatweefsel, het matige ongerief dat de ratten als proefdieren in het onderzoek zullen ervaren?***

2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.B; zie bijlage I voor voorbeelden*).

De belangrijkste belanghebbenden in dit fundamentele en translationele project dat gericht is op ***het verkrijgen van meer inzicht in de rol die de afbraaksnelheid van een kunststof bloedvat speelt in de sterkte en de opbouw van nieuw bloedvatweefsel***, zijn op korte termijn de proefdieren en de onderzoekers.

Op lange termijn bestaan de belanghebbenden uit de patiënten die lijden aan aderverkalking en een bypassoperatie nodig hebben.

De ratten worden door dit onderzoek geschaad omdat het pijn en stress veroorzaakt. Er worden 82 ratten gebruikt in dit onderzoek.

De andere groep direct belanghebbenden, namelijk de onderzoekers, zullen door dit onderzoek hun fundamentele kennis en inzichten vergroten, welke gedeeld zullen worden met het wetenschappelijk veld. Aanvullende belangen van onderzoekers zouden kunnen zijn dat meewerken aan dit onderzoek hun carrièremogelijkheden vergroot door publicaties en dat zij nieuwe vindingen mogelijk kunnen patenteren.

Minder direct aanwezig zijn de waarden en belangen van patiënten. De inzichten die dit onderzoek zal opleveren, kunnen op termijn een belangrijke bijdrage leveren aan de ontwikkeling van kunststof bloedvaten die gebruikt kunnen worden in bypass operaties. Dit valt echter buiten het directe onderzoeksdoel van deze studie.

Hoewel 82 ratten matig ongerief zullen ondergaan, acht de DEC dit gerechtvaardigd vanwege de verwachte gunstige gevolgen van dit onderzoek. Het plaatsen van deze kunststof bloedvaten zal matig ongerief veroorzaken in de ratten, maar de DEC erkent dat dit model nodig is om de vraagstelling te beantwoorden. Het maatschappelijke belang van deze projectaanvraag is dat er meer inzicht komt in de rol die de afbraaksnelheid van kunststof bloedvaten kan spelen in de uiteindelijke sterkte en opbouw van het nieuwe bloedvatweefsel. Dit onderzoek kan leiden tot de beste selectie van kunststof bloedvaten aangepast aan de situatie waarin ze geplaatst zullen worden. De toepassing van dit inzicht in de therapeutische behandeling zal nog jaren duren en ligt buiten dit voorstel. De resultaten van deze studie zullen bijdragen aan de wetenschappelijke kennis in het veld van in situ afbreekbare kunststof bloedvaten.

De DEC waardeert de vermeerdering van fundamentele kennis en de toepassing daarvan op korte termijn als het meest zwaarwegende gevolg dat tegenover het maximaal matige ongerief van 82 ratten staat. Dat het onderzoek ook nog maatschappelijke gevolgen heeft doordat de inzichten verkregen uit dit onderzoek in de toekomst kunnen worden gebruikt voor de therapeutische behandeling van aderverkalking weegt ook mee, zij het in mindere mate.

3. Beantwoord de centrale morele vraag. Maak voor het beantwoorden van deze vraag gebruik van bovenstaande afweging van morele waarden. Maak daarnaast gebruik van de volgende moreel relevante feiten: belang onderzoek (C4), kennis en kunde van betrokkenen (C7), haalbaarheid doelstellingen (C8), categorieën en herkomst dieren (C9), 3V's (C14-C18), ongerief (C10-13 en C19) en relevante wet en regelgeving (C2). Onderbouw hoe al deze elementen zijn meegewogen bij de beantwoording van de centrale morele vraag, zodanig dat het navolgbaar is zonder gedetailleerde kennis te hebben van het projectvoorstel (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.C; zie bijlage I voor voorbeeld*).

### **Gekweekte lichaamseigen bloedvaten vervangen zieke bloedvaten**

De DEC is van mening dat het belang van het verkrijgen van inzicht in de invloed die de afbraaksnelheid van kunststof bloedvaten kan spelen in de opbouw en de sterkte van nieuw gevormd bloedvatweefsel (het wetenschappelijk belang), en op langere termijn, de bijdrage aan het meest geschikte materiaal voor kunststof bloedvaten om te gebruiken bij onder andere bypassoperaties (het maatschappelijke belang), het matige ongerief dat de 82 ratten in dit onderzoek zullen ervaren, rechtvaardigt.

De DEC acht het aannemelijk dat de doelstelling behaald zal worden. De kennis en kunde van de onderzoekers is aanwezig. Het wetenschappelijke belang van de doelstelling is duidelijk en zal de directe opbrengst zijn van dit onderzoek. Het maatschappelijke belang van de doelstelling is dat er meer inzicht komt in het meest geschikte materiaal voor kunststof bloedvaten. De onzekerheid dat deze kennis daadwerkelijk bijdraagt aan een nieuwe therapie, is meegewogen in het advies. Voorafgaande resultaten uit het *in vitro* werk zijn gebruikt om de verschillende kunststof bloedvaten uitgebreid te onderzoeken.

Om de doelstelling te bereiken worden ratten als proefdieren gebruikt. Het matige ongerief dat de ratten ondergaan, wordt veroorzaakt door de operatie. Dit *in vivo* experiment is nodig omdat de complexe samenhang van de verschillende cellen niet *in vitro* nagebootst kan worden. De onderzoekers beperken het ongerief van de dieren door verschillende maatregelen (veel ervaring met de modellen, duidelijk geformuleerde humane eindpunten en aanbod van geweekt, hoogcalorisch voer).

De DEC is bovendien van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven wetenschappelijke doelstellingen en dat de gekozen strategie en de experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen de kaders van het project. De DEC is er verder van overtuigd dat de aanvrager voldoende kennis en kunde heeft om de doelstelling te behalen. Tevens verwacht de DEC op basis van deze aanvraag dat de aanvrager voldoende maatregelen treft om zowel het ongerief van de dieren alsmede het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken. De aanvrager heeft volgens de DEC overtuigend aangegeven dat gebruik van ratten voor het behalen van het directe doel noodzakelijk is en dat er geen geschikte proefdiervrije alternatieven mogelijk zijn.

Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van proefdieren rechtvaardigt.

## **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

Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.

Voor de uitvoering van dit project is tevens ministeriële ontheffing vereist

Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten...

De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is om de volgende redenen

De volgende doorslaggevende ethische bezwaren:...

De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...

2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een meerderheidsstandpunt, specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.A; zie bijlage I voor voorbeeld*).

Dit DEC-advies is unaniem tot stand gekomen.

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

Er zijn geen knelpunten of dilemma's naar voren gekomen bij dit projectvoorstel.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Academic Medical Center Amsterdam

Meibergdreef 31  
1105 AZ AMSTERDAM



**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  
AVD118002017844

**Bijlagen**

2

Datum 14 februari 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 14 februari 2017. Het gaat om uw project "In-situ tissue engineering of cardiovascular constructs". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD118002017844. 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:**

14 februari 2017

**Aanvraagnummer:**

AVD118002017844

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

**Datum:**  
14 februari 2017  
**Aanvraagnummer:**  
AVD118002017844

### **Gegevens aanvrager**

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 11800  
Naam instelling of organisatie: Academic Medical Center Amsterdam  
Naam portefeuillehouder of  
diens gemachtigde: ██████████  
KvK-nummer: 343362777  
Straat en huisnummer: Meibergdreef 31  
Postcode en plaats: 1105 AZ AMSTERDAM  
IBAN: NL68RABO0136166741  
Tenaamstelling van het  
rekeningnummer: AMC

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: ██████████  
Functie: Principal Investigator/Onderzoeker  
Afdeling: ██████████  
Telefoonnummer: ██████████  
E-mailadres: ██████████

**Datum:**  
14 februari 2017  
**Aanvraagnummer:**  
AVD118002017844

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 april 2017  
Geplande einddatum: 1 april 2021  
Titel project: In-situ tissue engineering of cardiovascular constructs  
Titel niet-technische samenvatting: In-situ weefsel formatie voor hart- en vaatprotheses  
Naam DEC: DEC AMC  
Postadres DEC: Meibergdreef 31  
E-mailadres DEC: [REDACTED]

**Betaalgegevens**

De leges bedragen: € 1.287,-  
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: Amsterdam  
Datum: 10 februari 2017

**Datum:**  
14 februari 2017  
**Aanvraagnummer:**  
AVD118002017844



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

AMC crediteurenadministratie  
Postbus 400  
1115 ZJ DUIVENDRECHT  


**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  
AVD118002017844  
**Bijlagen**  
2

Datum 14 februari 2017  
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**

Factuurdatum: 14 februari 2017  
Vervaldatum: 16 maart 2017  
Factuurnummer: 170844  
Ordernummer: Kostenplaatsnummer 

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD118002017844	€ 1.287,00

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



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Academic Medical Center Amsterdam

Meibergdreef 31  
1105 AZ AMSTERDAM



**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  
AVD118002017844  
**Bijlagen**  
1

Datum 3 april 2017  
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED],

Op 14 februari 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "In-situ tissue engineering of cardiovascular constructs" met aanvraagnummer AVD118002017844. 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 "In-situ tissue engineering of cardiovascular constructs" starten. De vergunning wordt afgegeven van 4 april 2017 tot en met 1 april 2021.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

#### **Procedure**

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC AMC gevoegd. Dit advies is opgesteld op 14 februari 2017. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Dit advies van de commissie nemen wij over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

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

**Bezwaar**

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

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

**Datum:**

3 april 2017

**Aanvraagnummer:**

AVD118002017844

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 Peuter  
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:** Academic Medical Center Amsterdam  
**Adres:** Meibergdreef 31  
**Postcode en plaats:** 1105 AZ AMSTERDAM  
**Deelnemersnummer:** 11800

deze projectvergunning voor het tijdvak 4 april 2017 tot en met 1 april 2021, voor het project "In-situ tissue engineering of cardiovascular constructs" met aanvraagnummer AVD118002017844, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC AMC.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Principal Investigator/Onderzoeker.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 14 februari 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 16 maart 2017;
  - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 4 februari 2017;
  - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 14 februari 2017, ontvangen op 17 februari 2017.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
<b>1: Abdominal vascular interposition graft replacement in rats</b>				
	Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> ) / Sprague-Dawley rats	82	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. 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.

**Aanvraagnummer:**  
AVD118002017844

De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.



**Aanvraagnummer:**

AVD118002017844

## 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:**

AVD118002017844

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

**Einde van een dierproef**

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

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

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

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