

	Dossier: AVD11500202418469	
		Aanwezig
1	NTS	X
2	Aanvraagformulier	X
3	Projectvoorstel	X
4	Bijlage beschrijving dierproeven	X
5	DEC-advies	X
6	Ontvangstbevestiging	X
	Evt. Vragen CCD aan aanvrager	X
	Evt. antwoorden aanvrager	X
7	Beschikking en vergunning	X

NIET-TECHNISCHE PROJECTSAMENVATTING

Naam van het project	Bescherming van het slakkenhuis bij het plaatsen van hoorimplantaten
NTS-identificatiecode	NTS-NL-780601 v.1, 09-01-2025
Land	Nederland
Taal	nl
Duur van het project, uitgedrukt in maanden.	60
Trefwoorden	Toedieningsmethode Bescherming Slakkenhuis Cavia Gehoorverlies
Doel(en) van het project	Fundamenteel onderzoek: Zintuigorganen (huid, ogen en oren) Omzettinggericht en toegepast onderzoek: Aandoeningen van zintuigorganen (huid, ogen en oren) bij de mens

DOELSTELLINGEN EN VERWACHTE VOORDELEN VAN HET PROJECT

Beschrijf de doelstellingen van het project (bijvoorbeeld het aanpakken van bepaalde wetenschappelijke onduidelijkheden, of wetenschappelijke of klinische behoeften).	<p>Slechthorendheid wordt veroorzaakt door schade aan het gehoororgaan, het slakkenhuis (cochlea). In het slakkenhuis bevinden zich haarcellen. Deze worden in trilling gebracht door geluidsgolven en zetten deze golven om in een elektrisch signaal, wat wordt doorgegeven aan de gehoorzenuw en de hersenen. Slechthorendheid ontstaat bij schade aan of het verlies van haarcellen in het slakkenhuis, waardoor geluidsgolven niet meer worden omgezet in een elektrisch signaal en deze niet meer wordt doorgegeven aan de gehoorzenuw. In een vergevorderd stadium veroorzaakt dit slechthorendheid en doofheid. Met de tijd gaat het gehoor langzaam achteruit, waardoor uiteindelijk niet alle slechthorenden en doven voldoende geholpen zijn met een hoortoestel. De volgende stap in het behandelplan is het operatief plaatsen van een hoorimplantaat (cochleair implantaat, CI). Het CI bestaat uit een intern en een extern deel. Het interne gedeelte wordt in het slakkenhuis (bij het gehoororgaan) geplaatst en deels op de schedel. Het externe gedeelte, bevat een microfoon en zit met een magneet vast aan het interne gedeelte op de schedel. Geluiden worden opgevangen door de microfoon, omgezet in een elektrisch signaal en doorgegeven aan het interne gedeelte. In het slakkenhuis geeft het CI de elektrische signalen door aan de gehoorzenuw. Ondanks dat CI-patiënten doof zijn, zitten er nog enkele functionerende haarcellen in het slakkenhuis, welke het restgehoor vormen. Deze resterende haarcellen gaan tijdens het plaatsen van het CI in het slakkenhuis in de meeste patiënten kapot. Als het lukt om het restgehoor te behouden tijdens het plaatsen van het CI, dan kan een CI-patiënt gemakkelijker gesprekken verstaan in rumoerige ruimtes. Om deze haarcellen tijdens het plaatsen van het CI te sparen, is het belangrijk om het CI zo voorzichtig mogelijk in het slakkenhuis te plaatsen. Ook is het mogelijk om de overgebleven haarcellen in het slakkenhuis bij de operatie te beschermen met medicatie. Voorbeelden van deze medicijnen zijn ontstekingsremmers of zenuwbeschermende stoffen. Het blijft echter een opgave om een geschikte methode te vinden om medicijnen aan het slakkenhuis toe te dienen, waarbij er een goed beschermend effect op het restgehoor wordt gevonden. Deze studie onderzoekt de bruikbaarheid van twee nieuwe toedieningsmethoden om medicijnen toe te dienen aan het slakkenhuis via een soort gelei en via een CI met een medicijn afgevend laag eromheen.</p>
Welke potentiële voordelen kan dit project opleveren? Leg uit hoe de wetenschap vooruit kan worden geholpen of mensen, dieren of het milieu uiteindelijk voordeel kunnen hebben bij het project. Maak, waar van toepassing, een onderscheid tussen voordelen op korte	<p>In de afgelopen 45 jaar is wereldwijd met de opkomst van cochleaire implantaten (CI's) aanzienlijke vooruitgang geboekt in de behandeling van doofheid, waardoor het perspectief voor mensen met ernstig gehoorverlies in positieve zin sterk is veranderd. Toch hebben veel CI-gebruikers nog steeds moeite met het luisteren naar muziek en het begrijpen van spraak in rumoerige luisteromstandigheden. Veel ernstig slechthorende patiënten behouden enig restgehoor. Behoud van dit restgehoor verbetert het verstaan van woorden en het kunnen voeren van gesprekken van CI-gebruikers in een rumoerige omgeving, zoals tijdens een 1-op-1 gesprek op een drukke verjaardag.</p> <p>De criteria voor de selectie van CI-kandidaten blijven erg complex. Veel bijna-dove patiënten, die</p>

termijn (binnen de looptijd van het project) en voordelen op lange termijn (die mogelijk pas worden bereikt nadat het project is afgerond).

onvoldoende baat hebben bij hoortoestellen, worden nog niet als geschikte kandidaten voor CI beschouwd. Aangezien hun gehoor nog te goed is en het inbrengen van de elektrodes in het slakkenhuis aanvullende schade aan het slakkenhuis en de haarcellen veroorzaakt, zijn KNO-artsen vaak terughoudend om bij deze groep patiënten een CI te plaatsen. Aangezien gehoorverlies over het algemeen toeneemt met de leeftijd, zullen deze patiënten na verloop van tijd waarschijnlijk alsnog in aanmerking komen voor een CI. In de tussentijd moeten ze echter leven met ernstig gehoorverlies, wat vaak leidt tot veel moeilijkheden in het dagelijks leven en soms zelfs sociale isolatie.

Als het lukt om met medicijnen het restgehoor na cochleaire implantatie beter te sparen, kunnen in de toekomst de selectiecriteria voor CI-kandidaten verbreed worden. Dat betekent dat meer mensen geholpen kunnen worden met een CI. Niet alleen mensen met ernstig gehoorverlies. Daarnaast zou een CI ook de aangewezen behandeling kunnen worden voor mensen met ernstig oorsuizen met nog relatief goed gehoor. Als meer mensen in aanmerking komen voor een CI, zouden zelfs patiënten die in de loop van de tijd doof zullen worden, bijvoorbeeld door erfelijke aandoeningen, een implantaat kunnen krijgen. Dit zou hun angst om langzaam doof te worden aanzienlijk kunnen verminderen. De verwachte uiteindelijke impact van dit project is dus enorm.

VOORSPELDE SCHADE

<p>In welke procedures worden de dieren gewoonlijk gebruikt (bijvoorbeeld injecties, chirurgische procedures)? Vermeld het aantal en de duur van deze procedures.</p>	<p>Onder algehele narcose wordt een deel van de cavia's compleet doof gemaakt met twee medicijnen. Dit is een standaardmethode, die in een eenmalige procedure effectief de haarcellen vernietigt. Een ander deel van de cavia's wordt gedeeltelijk doof gemaakt. Daarbij wordt de helft van de dosering van één van de twee medicijnen gegeven, in combinatie met de normale dosering van het tweede middel. Het doofmaken gebeurt 1x en is permanent. Voor implantatie worden onder algehele narcose drie naaldjes in de huid geplaatst (twee op de kop, één bij de achterpoot). Hiermee worden de elektrische potentialen van de hersenstam als reactie op een kort geluid gemeten. Na implantatie worden het gehoor eenmaal gemeten terwijl de cavia's wakker zijn. De gehoormetingen duren maximaal 60 minuten en gebeuren maximaal 3x. Onder narcose zal aan één kant een implantaat in het slakkenhuis geplaatst worden. De draden van dit implantaat wordt aangesloten op een stekkertje op het hoofd van de cavia. Door het aansluiten van een CI op hetzelfde stekkertje kunnen de herhaaldelijke metingen van de elektrische prikkels van de zenuw in het slakkenhuis, als reactie op verschillende geluiden (slakkenhuismetingen), in wakkere cavia's uitgevoerd worden. De operatie duurt maximaal 2 uur. In een aantal cavia's wordt direct aansluitend aan het plaatsen van het CI een beetje gelei (gevuld met medicatie) in het slakkenhuis achtergelaten. Dit gebeurt nog steeds onder algehele narcose. De gelei wordt maximaal 1x geplaatst en duurt maximaal 5 minuten. Vanaf het moment van implanteren worden herhaaldelijk de reacties van de haarcellen en van de gehoorzenuw gemeten. Voor de gehoorzenuwmetingen wordt het stekkertje gekoppeld aan het CI. Eerst worden deze slakkenhuismetingen tijdens de operatie gedaan, maximaal 2x. Na de operatie, worden deze metingen in totaal maximaal 5x herhaald in wakkere toestand. Tussen de slakkenhuismetingen in wakkere toestand zitten periodes van twee weken, waarin de cavia's tot rust kunnen komen. Deze twee typen slakkenhuismetingen worden gedaan in sessies van maximaal 90 minuten per keer. De cavia's worden gedood middels de best beschikbare methode voor de cavia, hiervoor wordt overlegd met de betrokken dierenarts en Instantie voor Dierenwelzijn. Nadat de cavia's gedood zijn, zullen de cochlea's in speciale vloeistof geplaatst worden, zodat ze houdbaar blijven. Ze worden onder de microscoop bekeken en de aantallen haarcellen en gehoorzenuwcellen worden geteld.</p>						
<p>Wat zijn de verwachte gevolgen/nadelige effecten voor de dieren, bijvoorbeeld pijn, gewichtsverlies, inactiviteit/verminderde mobiliteit, stress, abnormaal gedrag, en wat is de duur van die effecten?</p>	<p>In de trainingsfase wordt er geoefend op levende cavia's. Deze cavia's gaan onder narcose, krijgen éézijdig een CI en er worden slakkenhuis- en gehoormetingen gedaan. Deze cavia's worden tijdens de narcose gedood. De totale mate van ongerief ervaren door deze cavia's wordt 'terminaal' genoemd. 50% van de cavia's in het acute experiment krijgt een halfdoofmakende behandeling, waarna zij gedeeltelijk kunnen horen. Deze cavia's moeten wennen aan het verminderd horen ('matig' ongerief). Het effect van de doofmakende behandeling wordt gecontroleerd middels gehoortesten. De cavia's worden opgepakt en in een meetopstelling geplaatst ('licht' ongerief). De andere 50% van de cavia's in het acute experiment krijgt geen doofmakende behandeling en blijft normaal horen. Na twee weken gaan alle cavia's onder narcose. Het 'normale gehoor' van normaal horende cavia's wordt getest onder narcose (geen ongerief door de narcose). In dezelfde narcose krijgen alle cavia's een CI en worden er slakkenhuis- en gehoormetingen gedaan. De cavia's worden tijdens de narcose gedood en worden niet meer wakker. De totale mate van ongerief, ervaren door de normaalhorende cavia's, noemen we 'terminaal'. De totale mate van ongerief, ervaren door de halfdove cavia's, noemen we 'matig'. 50% van de cavia's in de chronische experimenten krijgt een halfdoofmakende of doofmakende behandeling, waardoor zij nog maar deels, of niet meer horen. De cavia's moeten wennen aan het niet meer kunnen horen ('matig' ongerief). Het effect van de doofmakende behandeling wordt gecontroleerd middels gehoortesten. De cavia's opgepakt en in een meetopstelling geplaatst ('licht' ongerief). Twee weken later gaan alle cavia's onder narcose en krijgen ze een CI. Tijdens de operatie worden gehoor- en slakkenhuis metingen gedaan. De operatie duurt maximaal twee uur. Daarna worden deze cavia's wél wakker uit de narcose. Door het wakker worden uit de narcose ervaren de cavia's 'matig' ongerief (eventuele misselijkheid of sufheid 2 uur na de narcose). In de acht weken na de operatie volgen er tweewekelijks slakkenhuis metingen, welke maximaal 90 minuten per keer duren. De cavia's worden voor de metingen opgepakt en in de meetopstelling geplaatst, welke zich in een rustige ruimte bevindt. Uit eerdere ervaring is bekend dat cavia's kalm blijven tijdens de metingen ('licht ongerief). Na acht weken worden de cavia's gedood. De totale mate van ongerief, ervaren door de cavia's in de chronische experimenten, noemen we 'matig'.</p>						
<p>Welke soorten en aantallen dieren zullen naar verwachting</p>	<table border="1"><thead><tr><th data-bbox="411 2116 703 2201"><i>Soort:</i></th><th data-bbox="703 2116 799 2201"><i>Totaal aantal</i></th><th data-bbox="799 2116 1568 2201"><i>Geraamde aantallen naar ernstgraad</i></th></tr></thead><tbody><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></tbody></table>	<i>Soort:</i>	<i>Totaal aantal</i>	<i>Geraamde aantallen naar ernstgraad</i>			
<i>Soort:</i>	<i>Totaal aantal</i>	<i>Geraamde aantallen naar ernstgraad</i>					

worden gebruikt? Wat zijn de verwachte ernstgraden en de aantallen dieren in elke ernstcategorie (per soort)?		<i>Terminaal</i>	<i>Licht</i>	<i>Matig</i>	<i>Ernstig</i>
	Cavia's (Cavia porcellus)	245	23	0	222
Wat gebeurt er met de dieren die aan het einde van de procedure in leven worden gehouden?	<i>Soort:</i>	<i>Geraamd aantal te hergebruiken, in het habitat-/houderijsysteem terug te plaatsen of voor adoptie vrij te geven dieren</i>			
		<i>Hergebruikt</i>	<i>Teruggeplaatst</i>	<i>Geadopteerd</i>	
Geef de redenen voor het geplande lot van de dieren na de procedure.	Voor het bepalen van het aantal zenuwcellen in de gehoorzenuw en het aantal haarcellen in het slakkenhuis na het toedienen van bovenstaande medicijnen, is het noodzakelijk om de slakkenhuizen van de cavia's onder de microscoop te bekijken. Dit kan niet als het dier nog leeft.				

TOEPASSING VAN DE DRIE V'S

1. Vervanging

Beschrijf welke diervrije alternatieven op dit gebied voorhanden zijn en waarom zij niet voor het project kunnen worden gebruikt.

Vervanging is niet mogelijk aangezien het gehele gehoororgaan inclusief verbinding met de hersenen via de gehoorzenuw intact en werkend moeten zijn om de gehoor- en slakkenhuis metingen te kunnen doen. Om deze reden is het ook niet mogelijk om proefdiervrije organ-on-chip modellen of een 3D-geprint cochleamodellen te gebruiken. Natuurlijke veroudering en verslechtering van dit gehele systeem, na specifieke haarcelschade, kan alleen in levende wezens onderzocht worden.

Experimenten met gelei als toedieningsmethode zijn in het verleden in schapen uitgevoerd, waarbij de gelei rondom de wervelkolom werd toegediend. In dat diersmodel bleek het middel veilig te zijn. Aangezien de gelei-applicatie in het slakkenhuis een nieuwe toepassing is, is een cavia-model het enige bruikbare model om deze nieuwe toepassing van de gelei in te onderzoeken. Het is nog niet mogelijk om een menselijke studie op te starten.

2. Vermindering

Leg uit hoe de aantallen dieren voor dit project zijn bepaald. Beschrijf de stappen die zijn genomen om het aantal te gebruiken dieren te verminderen en de beginselen die zijn gebruikt bij het opzetten van de studies. Beschrijf, waar van toepassing, de praktijken die gedurende het hele project zullen worden toegepast om het aantal dieren die in overeenstemming met de wetenschappelijke doelstellingen werden gebruikt, tot een minimum te beperken. Deze praktijken kunnen bijvoorbeeld bestaan uit proefprojecten, computermodellen, het delen van weefsel en hergebruik.

- 1) De eerste schatting van het aantal cavia's is gedaan op basis van een statistische berekening (dat noemen we een powercalculatie). Bij het opmaken van het werkprotocol, wordt in overleg met een statisticus en de betrokken Instantie voor Dierenwelzijn het precieze aantal benodigde cavia's berekend.
- 2) We beginnen met een trainingsfase. Hierdoor zijn alle (nieuwe) onderzoekers, voor de start van dit experiment bekwaam om cavia's te implanteren. Tijdens die trainingsfase zullen we chirurgische technieken trainen op restmateriaal van cavia's en daarna op een aantal levende cavia's. Daardoor zullen er tijdens het experiment minder extra cavia's nodig wegens uitval door mislukte operatie.
- 3) Er wordt gebruik gemaakt van een interne controlegroep, waardoor er geen aparte controlecavia's nodig zijn. Dit wordt als volgt gedaan: eenzijdig wordt een slakkenhuis geïmplanteerd en het andere niet-geïmplanteerde slakkenhuis dient als controle.

3. Verfijning

Geef voorbeelden van de specifieke maatregelen (bv. verscherpte monitoring, postoperatieve behandeling, pijnbestrijding, training van dieren) die in verband met de procedures moeten worden genomen om de welzijnskosten (schade) voor de dieren tot een minimum te beperken. Beschrijf de mechanismen om gedurende de looptijd van het project nieuwe verfijningstechnieken in gebruik te nemen.

- 1) Voor de start van de operatie krijgen de cavia's een eerste dosis pijnstilling. Alle chirurgische ingrepen worden onder narcose gedaan; na de operatie wordt pijnstilling gegeven.
- 2) Lokale pijnstilling in het gebied achter het oor van de cavia (dit is het operatiegebied).
- 3) Oogzalf tijdens de operatie om uitdroging van de ogen te voorkomen (cavia's houden tijdens de narcose hun ogen open).
- 4) Gedurende operaties en het wakker worden zullen de cavia's warm gehouden worden op een warmtemat om ongewenste afkoeling te voorkomen.
- 5) 2 uur na start van de operatie wordt ter voorkomen van uitdroging extra vocht toegediend.
- 6) Voor de herhaaldelijke slakkenhuismetingen is narcose niet nodig, omdat uit ruime ervaring is gebleken dat deze metingen niet tot uitingen van schrik/angst/pijn leiden bij de cavia's.
- 7) Er is gekozen voor vrouwelijke cavia's zodat ze te allen tijde gezamenlijk gehuisvest kunnen worden.
- 8) Een acclimatisatieperiode van twee weken voor de start van het experiment, waarin de dieren kunnen wennen aan hun omgeving en aan het opgepakt worden door mensen.
- 9) Antibioticakuur direct na de operatie, om te voorkomen dat zij na de operatie een infectie krijgen door het plaatsen van een implantaat.
- 10) Verrijking van hun leefruimte/kooien met attributen zoals plastic buizen.
- 11) Dove en normaalhorende cavia's worden samen gehuisvest.

Licht de keuze van de soorten en de bijbehorende levensstadia toe

In gehooronderzoek wordt de cavia veel gebruikt, wat vergelijking van onze toekomstige resultaten met de literatuur mogelijk maakt. Daarbij heeft de cavia een eenvoudig te bereiken slakkenhuis en is de opbouw van de binnenkant van het slakkenhuis redelijk gelijk aan dat van de mens (in

tegenstelling tot het slakkenhuis van andere knaagdieren). Tot slot heeft onze onderzoeksgroep veel ervaring met cochleaire implantatie-operaties en metingen van zenuwactiviteit van het gehoororgaan in cavia's.

De cavia's worden besteld bij een erkende EU leverancier voor proefdieren. Er is gekozen voor jongvolwassen vrouwelijke cavia's van ongeveer vier weken oud. Op jongere leeftijd is 'natuurlijke' schade aan het gehoor van de cavia nog minimaal en omdat het doof makende effect van de twee gebruikte medicijnen op latere leeftijd minder groot is.

We kiezen voor vrouwelijke cavia's omdat deze rustiger zijn dan mannetjes. Daarnaast kunnen mannetjes ook gaan vechten, waardoor ze mogelijk individueel gehuisvest zouden moeten worden, terwijl gezamenlijke huisvesting wenselijk is. Het risico dat cavia's elkaars stekertjes beschadigen is veel kleiner met vrouwtjes dan met mannetjes.

VOOR EEN BEOORDELING ACHTERAF GESELECTEERD PROJECT

Project geselecteerd voor BA?	nee
Termijn voor BA	
Reden voor de beoordeling achteraf	
Bevat ernstige procedures	
Maakt gebruik van niet-menselijke primaten	
Andere reden	
Toelichting van de andere reden voor de beoordeling achteraf	

AANVULLENDE VELDEN

Link naar de eerdere versie van de NTS buiten het EC-systeem	
--	--

Current version: 7.8.202501141645 (25c34dc)Version date: 2025-01-14 16:46:23

[Top](#) | [Contact](#) | [Cookies](#) | [Privacy policy](#) | [Legal notices](#) | [Accessibility](#)



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 of in de toelichting op de website.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Gegevens aanvrager

1.1 Heeft u een deelnemernummer van de NVWA?
Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.

Ja > Vul uw deelnemernummer in 11500

Nee > U kunt geen aanvraag doen

1.2 Wat voor aanvraag doet u?

Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 1.3

Wijziging > Vul hiernaast het AVD nummer van uw vergunde project in en ga verder met vraag 2.1

Melding > Vul hiernaast het AVD nummer van uw vergunde project in en ga verder met vraag 2.2

1.3 Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.

Naam instelling of organisatie	UMC Utrecht			
Titel, voorletters en achternaam van de portefeuillehouder	Titel	Voorletters	Achternaam	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw
	██████	██	██████	

E-mailadres contactpersoon	info@ivd-utrecht.nl			
----------------------------	---------------------	--	--	--

Titel, voorletters en achternaam van de diens gemachtigde (indien van toepassing)	Titel	Voorletters	Achternaam	<input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw
	n.v.t.			

E-mailadres gemachtigde				
-------------------------	--	--	--	--

Vul de gegevens van het postadres in.

Straat en huisnummer	Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht		50
----------------------	--------------------------------------	--	----

Postcode en plaats	3584CJ	UTRECHT	
--------------------	--------	---------	--

Postbus, postcode en plaats	80125	3508TC	UTRECHT
-----------------------------	-------	--------	---------

1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.

(Titel) Naam en voorletters	██████████	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
-----------------------------	------------	---

Functie	Wetenschappelijk onderzoeker		
---------	------------------------------	--	--

Afdeling	Keel-, Neus- en Oorheelkunde		
----------	------------------------------	--	--

Telefoonnummer	██████████		
----------------	------------	--	--

1.5	<i>(Indien van toepassing)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	E-mailadres	[REDACTED]
		(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
		Functie	Arts-onderzoeker
		Afdeling	Keel-, Neus- en Oorheelkunde
1.6	<i>(Indien van toepassing)</i> Vul hier de gegevens in van de persoon aan wie de portefeuillehouder de verantwoordelijkheid inzake de algemene uitvoering van het project en de overeenstemming daarvan met de projectvergunning heeft gedelegeerd.	Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]
		(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	
1.7	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de Instantie voor Dierenwelzijn	Afdeling	
		Telefoonnummer	030-2531569
1.8	Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?	E-mailadres	info@ivd-utrecht.nl
		<input type="checkbox"/> Ja > <i>Stuur dan het ingevulde formulier Melding Machtiging mee met deze aanvraag</i> <input checked="" type="checkbox"/> Nee	

2 Over uw aanvraag

2.1	Gaat uw aanvraag over een <i>wijziging</i> op een vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn?	<input checked="" type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3	
		<input type="checkbox"/> Ja > Geef hier onder kort de wijziging en de onderbouwing daarvan weer. Geef in de originele formulieren (niet-technische samenvatting, projectvoorstel en bijlage dierproeven) duidelijk aan (bij voorbeeld in een andere kleur) waar de projectaanvraag wijzigt. Ga daarna verder met vraag 6.	
2.2	Gaat uw aanvraag over een <i>melding</i> op een vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn?	<input type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3	
		<input type="checkbox"/> Ja > Geef hier onder weer wat deze melding inhoudt en ga verder met vraag 6	

3 Over uw project

3.1	Wat is de geplande start- en einddatum van het project?	Startdatum	1 - 11 - 2024
		Einddatum (t/m)	- - 5 jr
3.2	Wat is de titel van het project?	Bescherming van de cochlea bij cochleaire implantatie	
3.3	Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?	Bescherming van cochleaire structuren bij cochleaire implantatie	
3.4	Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) van voorkeur?	Naam DEC	DEC Utrecht
		Postadres	Postbus 85500 3508 GA Utrecht
		E-mailadres	dec-utrecht@umcutrecht.nl

4 Factuurgegevens

- 4.1 (indien factuuradres afwijkt van de gegevens uit vraag 1.3) Vul de gegevens van het factuuradres in.

Naam: UU-ASC		Afdeling:
Straat:		Huisnummer:
Postcode:	Plaats:	
Postbus: 80.011	Postcode: 3508TA	Plaats: UTRECHT
E-mail: asc.factuur@uu.nl		

- 4.2 (optioneel) Vul hier het ordernummer van de instelling in.

Ordernummer: CB.841910.3.01.011

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?

Verplicht	
<input checked="" type="checkbox"/> Projectvoorstel	Aantal bijlage(n) dierproeven 1
<input checked="" type="checkbox"/> Niet-technische samenvatting	
Overige bijlagen, indien van toepassing	
<input type="checkbox"/> Melding Machtiging	
<input type="checkbox"/>	

6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD en per post naar de Centrale Commissie Dierproeven (voor adresgegevens zie website)

Ondertekening door de portefeuillehouder namens de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.8). 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 C 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	[REDACTED]
Functie	[REDACTED]
Plaats	Utrecht
Datum	[REDACTED]
Handtekening	[REDACTED]



Formulier

Projectvoorstel dierproeven

- Dit formulier gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit formulier hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie vindt u in de 'Toelichting op de te gebruiken formulieren voor de aanvraag van een projectvergunning' op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	11500
1.1 Vul de naam van de instelling of organisatie in.	UMC Utrecht
1.3 Vul de titel van het project in.	Bescherming van de cochlea bij cochleaire implantatie

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project? <i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Fundamenteel onderzoek
	<input checked="" type="checkbox"/> Translationeel of toegepast onderzoek
	<input type="checkbox"/> Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
	<input type="checkbox"/> Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
	<input type="checkbox"/> Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
	<input type="checkbox"/> Hoger onderwijs of opleiding
	<input type="checkbox"/> Forensisch onderzoek
	<input type="checkbox"/> Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

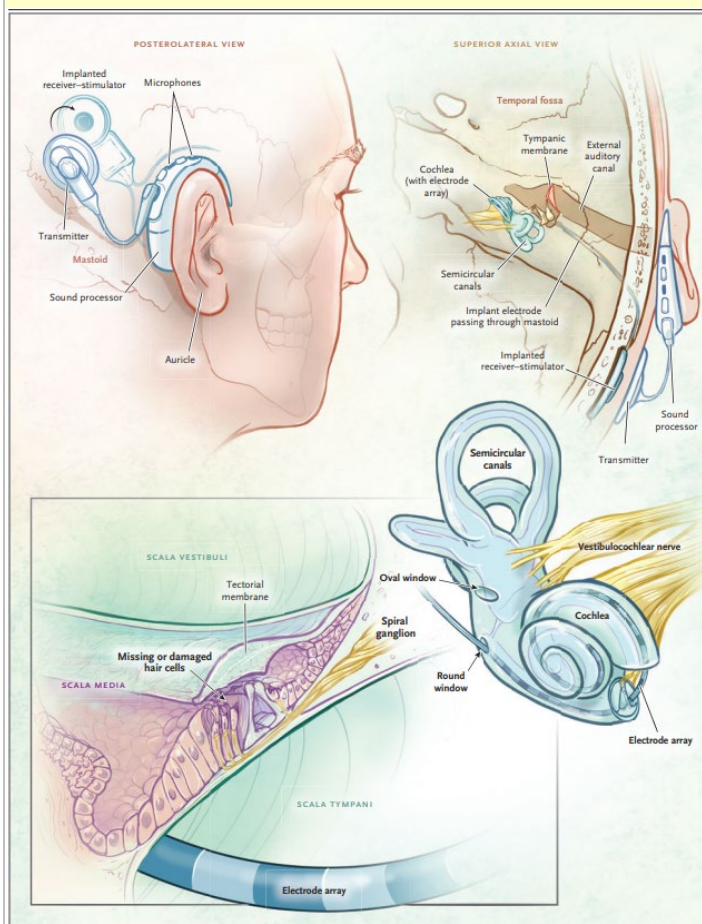
3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2.1 aangekruiste categorieën.

Matig tot ernstig gehoorverlies is een wereldwijd gezondheidsprobleem met aanzienlijke impact op de levenskwaliteit van miljoenen individuen (Wattamwar et al., 2017; WORLD REPORT ON HEARING, 2021). Gehoorverlies heeft een gevarieerde etiologie (genetisch disfunctioneren, infectie, lawaitrauma, ouderdomsdoofheid, ototoxiciteit door antibiotica of chemotherapie), maar in veel van de gevallen ligt het probleem bij de auditieve periferie (de cochlea) en wordt het gehoorverlies veroorzaakt door afwezigheid, vernietiging of disfunctioneren van haarcellen.

Terwijl conventionele hoortoestellen een oplossing bieden voor patiënten met beperkt haarcelverlies, zijn patiënten met substantieel tot volledig haarcelverlies met een hoortoestel vaak onvoldoende geholpen. Voor deze groep patiënten is een cochleair implantaat (CI) een volgende behandeloptie. De externe microfoon en processor van het CI sturen geluid door naar een interne elektrode array, geïmplanteerd in de scala tympani van de cochlea. Deze interne elektrode array maakt het mogelijk om beschadigde en verloren haarcellen te omzeilen en stimuleert rechtstreeks de spirale ganglioncellen (SGC's) van de gehoorzenuw, zie **figuur 1**. Op die manier kunnen dove mensen geluid opnieuw interpreteren (Carlson, 2020). Zij zijn daardoor weer in staat om 1-op-1 gesprekken te voeren in een rustige ruimte, wat het krijgen van een CI voor veel doven en slechthorenden een levensveranderende interventie maakt. Echter, zelfs met CI's ervaren patiënten vaak nog suboptimaal spraakverstaan, met name in uitdagende luisteromgevingen zoals sociale events, vergaderingen of bij het luisteren naar muziek (Soshi et al., 2014).



Figuur 1. Visualisatie van de onderdelen, de positionering en het werkingsmechanisme van een cochleair implantaat (Carlson, 2020).

Recent onderzoek heeft aangetoond dat veel CI patiënten, voor de plaatsing van het CI, nog over enige mate van akoestisch restgehoor beschikken, met name in de lage tonen. Een ruime meerderheid van de patiënten verliest dit akoestisch restgehoor in enige mate na de operatie. In een cohort van 140 mensen in het UMC

Utrecht werd slechts in 10% van de patiënten het restgehoor volledig behouden (Kant et al., 2022). Jaarlijks worden in Nederland ongeveer 633 CI's geplaatst (Onafhankelijk platform cochleaire implantatie, 2024).

Het is gebleken dat een combinatie van akoestisch en elektrisch gehoor via het CI, verbetering van het spraakverstaan geeft (Turner et al., 2004). Behoud van akoestisch restgehoor gaat gepaard met het sparen van cochleaire structuren (haarcellen, SGC's en gehoorzenuw). Verlies van haarcellen zorgt niet alleen voor direct gehoorverlies, maar heeft ook secundaire degeneratie van SGC's van de gehoorzenuw tot gevolg (Versnel et al., 2007). Doordat het CI defecte haarcellen passeert en elektrisch de gehoorzenuw stimuleert, is het implantaat volledig afhankelijk van de conditie van de gehoorzenuw. Het inperken van degeneratie van SGC's door resterende haarcellen te sparen zou verslechtering van de conditie van de gehoorzenuw kunnen beperken. Dit zou het elektrische gehoor middels een CI en daarmee ook het spraakverstaan van CI gebruikers moeten verbeteren (Kamakura & Nadol, 2016; Schwartz-Leyzac & Pfungst, 2018).

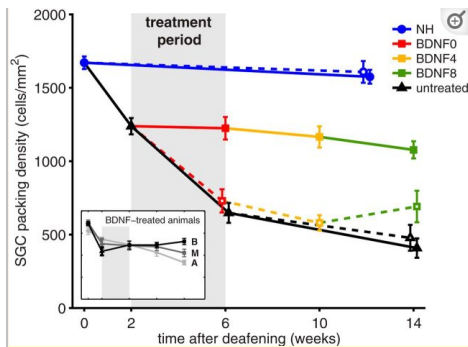
Onze onderzoeksgroep heeft al ruime ervaring met proefdieronderzoek in caviamodelen naar het sparen van het gehoor in het kader van cochleaire implantatie (AVD11500201550 Ramekers et al., 2022; en AVD1150020174315; Vink et al., 2022). Bovenstaande vormt de motivatie om het onderzoek naar behoud van de haarcellen SGC's en andere structuren in de cochlea, in het kader van cochleaire implantatie te vervolgen. Het doel van deze aanvraag is om de effecten van farmacologische interventies, zoals lokaal toegediende corticosteroïden of neurotrofe factoren, op het behoud van haarcellen en de gehoorzenuw te onderzoeken.

Neurotrofe behandeling van de cochlea

Een mogelijke oorzaak van degeneratie van spirale ganglioncellen (SGC's) van de gehoorzenuw is het verlies van of gebrek aan neurotrofe ondersteuning vanuit de haarcellen (Ramekers et al., 2012). Echter is het in CI patiënten van groot belang dat, ondanks hun doofheid, de kwaliteit van de SGC's van de gehoorzenuw zo goed mogelijk behouden wordt, aangezien de werking van het CI berust op het stimuleren van de gehoorzenuw.

Eerdere experimenten met dove cavia's (zonder restgehoor) hebben aangetoond dat behandeling met neurotrofe factoren, zoals brain-derived neurotrophic factor (BDNF) en neurotrophin-3 (NT-3) beschermende effecten kunnen hebben op de SGC's na inductie van haarcelverlies door ototoxische behandeling en plaatsing van een CI (AVD11500201550 Ramekers et al., 2022; en AVD1150020174315; Vink et al., 2022). Er werd daarbij in dove cavia's geëxperimenteerd met vrijwel compleet haarcelverlies, aangezien er in dat geval weinig afgifte van neurotrofe factoren vanuit resterende haarcellen is. Dit maakt het mogelijk om het effect van neurotrofe factoren op de SGC's van de gehoorzenuw te onderzoeken

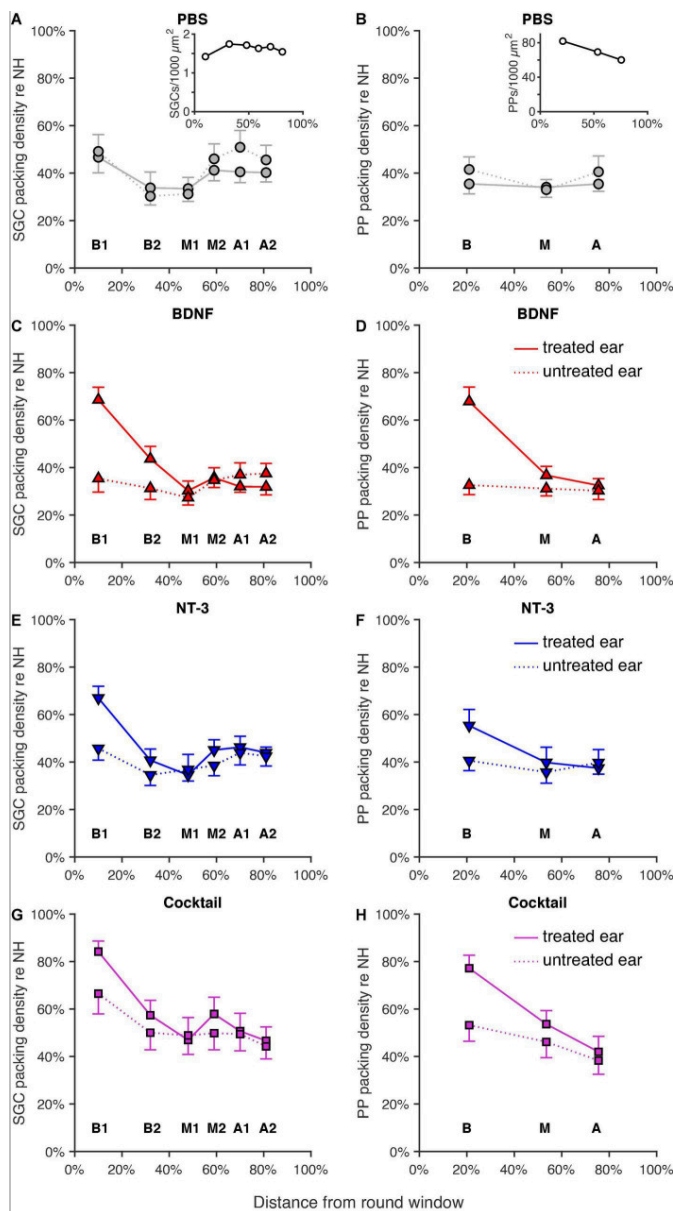
Ramekers et al. (2015) onderzochten dit door neurotrofe factoren gereguleerd aan de cochlea toe te dienen via een subcutaan op de cavia schedel bevestigde mini-osmotische pomp. Resultaten van deze studie lieten zien dat er hogere aantallen SGC's langs de hele lengte van de cochlea (van basaal naar apicaal) behouden werden, zelfs na het stoppen van de behandeling, zie **figuur 2**. Afgifte middels een mini-osmotische pomp is echter behoorlijk invasief. Een osmotische pomp zit namelijk als een extra vreemd lichaam onder de hoofdhuid op de schedel, wat een gevaar voor infectie vormt. Als de pomp is uitgewerkt, dient deze in een tweede operatie verwijderd te worden. De patiënt zou dan een extra keer onder narcose moeten. Al met al is een mini-osmotische pomp als toedieningsmethode niet transleerbaar naar de kliniek.



Figuur 2. Caviamodel waarin behandeling via osmotische pomp met BDNF vergeleken werd met niet-behandelde dove oren van cavia's en in normaalhorende cavia's. Het effect van de behandeling wordt uitgedrukt in de dichtheid spirale ganglion cellen (SGC's) van de gehoorzenuw. Behandeling met BDNF stopt degeneratie van SGC's en het beschermende effect houdt in ieder geval tot 8 weken na stoppen van de behandeling aan (Ramekers et al., 2015).

Bovenstaand onderzoek van Ramekers et al. (2015) werd vervolgd in de caviastudie van Vink et al. (2022), waarbij BDNF, NT-3 en een cocktail van beiden middelen een oplosbare gelatine-spons (spongostan) werden toegediend aan de cochlea van cavia's. Vergeleken met de onbehandelde controle groep, werden in cochlea's van de cavia's, die deze neurotrofe behandeling (BDNF, NT-3 en cocktail van BDNF en NT-3) hadden ondergaan, histologisch grotere aantallen SGC's gezien. Dit beschermende effect bleef echter voornamelijk beperkt tot de basale winding van de cochlea, met afname van het effect richting de apex (Vink et al., 2022). Resultaten van het onderzoek van Vink et al. (2022) worden weergegeven in **figuur 3**.

Zoals hierboven uiteengezet, blijft de klinische toepasbaarheid van een gereguleerde neurotrofe behandeling een uitdaging. Neurotrofe behandeling via een mini-osmotische pomp op de schedel is goed te reguleren, echter zoals beschreven niet transleerbaar en daarmee niet geschikt voor toepassing bij de mens. Afgifte van neurotrofe factoren via een in BDNF en NT-3 doordrenkte gelatine-spons is daarentegen minder goed te reguleren, doordat de passieve diffusie enkel geschiedt direct na plaatsing van de spons met NF (Vink et al., 2022). Daarnaast is het doel om SGC's over de gehele lengte van de cochlea te behouden, in plaats van voornamelijk in de basis van de cochlea. Derhalve blijft de vraag naar een klinisch-toepasbare methode voor het gereguleerd en gedoseerd toedienen van medicijnen zoals neurotrofe factoren aan de cochlea nodig.



Figuur 3. Caviamodel waarin behandeling via oplosbare spons met BDNF, NT-3 en de cocktail (BDNF en NT-3 tezamen), vergeleken werd met onbehandelde dove cavia oren. Het effect van de behandeling wordt uitgedrukt in de dichtheid spirale ganglioncellen (SGC's) van de gehoorzenuw. De letters B, M en A staan voor basaal, middel en apicaal, drie segmenten van de cochlea. Alle drie de behandelingen geven een verhoogde dichtheid van SGC's, met name in het basale segment van de cochlea. Het effect van de behandelingen is echter beperkt in het middelste en in het apicale segment. Het effect van de cocktail is het grootst, daarna volgt BDNF. NT-3 geeft het kleinste beschermende effect.

Corticosteroïde behandeling van de cochlea

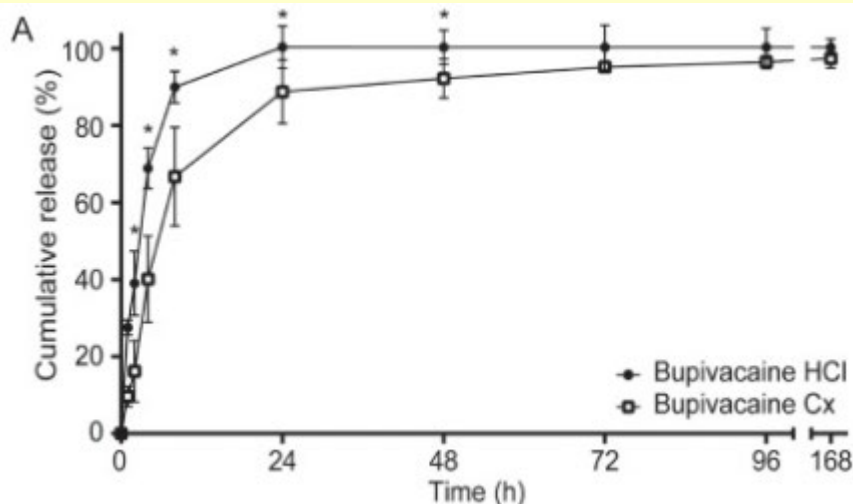
Insertie van de elektrodenarray van het CI in de scala tympani kan leiden tot acute mechanische insertieschade aan zowel de benige structuren van de cochlea als haarcellen (O'Leary et al., 2013). Dergelijke insertieschade draagt verder bij aan het verlies van akoestisch restgehoor van CI-patiënten. Daarnaast kan het leiden tot excessieve fibrose of botgroei, waardoor elektrische stimulatie van de gehoorzenuw door het CI minder effectief wordt (Kamakura & Nadol, 2016). Daarnaast zet weefschade, veroorzaakt door insertie, op moleculair niveau een ontstekingsreactie met oxidatieve stress in gang, waardoor haarcellen postoperatief langzaam verder afsterven (Eshraghi et al., 2013).

Corticosteroiden, zoals dexamethason, grijpen in op deze ontstekingsreactie, waardoor ze mogelijk bescherming zouden kunnen bieden aan haarcellen rondom cochleaire implantatie, met daarmee uiteindelijk toegenomen behoud van restgehoor. Systematische reviews van proefdierstudies, die het effect van corticosteroiden, zoals dexamethason, op het behoud van resterende haarcellen en dus het restgehoor onderzoeken, beschrijven dat resultaten uiteen liggen (Parys et al., 2022; Shaul et al., 2019). In een aantal studies was er een positief beschermend effect te zien, wat echter slechts kort aanhield. Langdurige toediening was mogelijk in studies die wederom gebruik maakten van een mini-osmotische pomp. In sommige studies was het beschermende effect ook beperkt tot de basale winding van de cochlea. Daarnaast benadrukken deze onderzoeken de noodzaak van een langdurige en geregleerde afgifte van deze middelen aan de cochlea, om het gewenste effect op de gewenste plek te bewerkstelligen (Parys et al., 2022; Shaul et al., 2019).

Eerst is het belangrijk om het effect van corticosteroiden op bescherming van haarcellen na cochleaire implantatie in normaalhoorende cavia's te onderzoeken, aangezien er functionerende haarcellen moeten zijn, om dit effect op te testen. Een volgende stap in het vergroten van de transleerbaarheid van resultaten van het onderzoek naar het effect van corticosteroiden op de bescherming van resterende haarcellen en het restgehoor, is om onderzoek in cavia's met hoogfrequent gehoorverlies en dus laagfrequent restgehoor te verrichten. In die cavia's is het patroon van doofheid namelijk vergelijkbaar met dat van veel CI-patiënten, die met name laagfrequent restgehoor hebben (Kant et al., 2022).

Afgifte van medicijnen middels GTA-hydrogel

Het blijft een uitdaging om een klinisch-toepasbare en methode voor het geregleerd toedienen van farmacologische middelen aan de cochlea te realiseren. Resultaten van proefdieronderzoek in schapen suggereren dat gelatine-tyramine (GTA) hydrogel, ontworpen door SentryX, een uitkomst zou kunnen bieden in het toedienen van lokale anesthetica na wervelkolom operaties (Steveink et al., 2022), zie **figuur 4**. Deze hydrogel beschikt over de juiste release/bio-actieve eigenschappen om een geregleerde afgifte van medicijnen te kunnen faciliteren. Daarnaast is deze hydrogel is dusdanig te modelleren, dat dexamethason en neurotrofe factoren door speciale chemische verbindingen aan de hydrogel moleculen te binden zijn. Deze hydrogel is biocompatibel en veilig gebleken en volledig oplosbaar. Tot slot is deze hydrogel elastisch en toch sterk (www.sentryx.nl/technology, 2024). Daardoor lijkt deze hydrogel een veelbelovende toedieningsweg voor medicijnen aan het binnenoer. Klik of tik om tekst in te voeren. Verder fundamenteel proefdieronderzoek is nodig om de toepasbaarheid van deze GTA hydrogel in het kader van cochleaire implantatie te onderzoeken.



Figuur 4. GTA hydrogel voor een gecontroleerde afgifte van bupivacaine (lokaal middel voor pijnstilling). In de grafiek is te zien dat zelfs na 72 uur nog steeds medicijn afgegeven wordt.

Afgifte van medicijnen middels een drug-eluting-elektrode

Een andere methode om een gereguleerde afgifte van medicijnen aan de cochlea te bewerkstelligen, is middels een drug-eluting-elektrode array (DEE). Proefdieronderzoek met elektrode arrays, omhuld met een drug-eluting film voor een afgifte van o.a. corticosteroiden, suggereert dat de DEE, van verschillende CI-fabrikanten, een succesvolle methode is om medicijnen aan cochlea toe te dienen (Astolfi et al., 2016; Farhadi et al., 2013). Via deze DEE zouden ook neurotrofe factoren aan de cochlea afgegeven kunnen worden. Daarbij zou de functie van het implantaat niet nadelig worden beïnvloed (Richardson et al., 2009). Het enige nadeel van een DEE is dat de omvang van de elektrodenarray na implantatie zouden kunnen toenemen, waardoor haarcellen na implantatie ook verder verdrukt zouden kunnen worden en kapot zouden kunnen gaan. Ondanks dat er dus al veel onderzocht is met DEE's van verschillende fabrikanten, zijn er bij de CI-fabrikant, waarmee onze onderzoeksgroep samenwerkt, twee nieuwe DEE modellen (A en B, specificaties zijn nog niet bekend) in ontwikkeling. Aldus is verder onderzoek nodig om bovenstaande resultaten en hypothesen te bevestigen, dan wel te verwerpen, met deze twee nieuwe modellen van deze CI-fabrikant.

Referenties (voor het gehele document):

- Astolfi, L., Simoni, E., Giarbini, N., Giordano, P., Pannella, M., Hatzopoulos, S., & Martini, A. (2016). Cochlear implant and inflammation reaction: Safety study of a new steroid-eluting electrode. *Hearing Research*, 336, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2016.04.005>
- Carlson, M. L. (2020). Cochlear Implantation in Adults. *New England Journal of Medicine*, 382(16), 1531–1542. <https://doi.org/10.1056/nejmra1904407>
- Eshraghi, A. A. (2006). Prevention of cochlear implant electrode damage. *Current Opinion in Otolaryngology & Head & Neck Surgery*, 14(5), 323–328. <https://doi.org/10.1097/01.moo.0000244189.74431.df>
- Eshraghi, A. A., Gupta, C., Van De Water, T. R., Bohorquez, J. E., Garnham, C., Bas, E., & Talamo, V. M. (2013). Molecular mechanisms involved in cochlear implantation trauma and the protection of hearing and auditory sensory cells by inhibition of c-jun-N-terminal kinase signaling. *Laryngoscope*, 123(SUPPL.1). <https://doi.org/10.1002/lary.23902>
- Farhadi, M., Jalessi, M., Salehian, P., Ghavi, F. F., Emamjomeh, H., Mirzadeh, H., Imani, M., & Jolly, C. (2013). Dexamethasone eluting cochlear implant: Histological study in animal model. *Cochlear Implants International*, 14(1), 45–50. <https://doi.org/10.1179/1754762811Y.0000000024>
- Jwair, S., Ramekers, D., Thomeer, H. G. X. M., & Versnel, H. (2023). Acute effects of cochleostomy and electrode-array insertion on compound action potentials in normal-hearing guinea pigs. *Frontiers in Neuroscience*, 17. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.978230>
- Jwair, S., Versnel, H., Stokroos, R. J., & Thomeer, H. G. X. M. (2022). The effect of the surgical approach and cochlear implant electrode on the structural integrity of the cochlea in human temporal bones. *Scientific Reports*, 12(1), 17068. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21399-7>
- Kamakura, T., & Nadol, J. B. (2016). Correlation between word recognition score and intracochlear new bone and fibrous tissue after cochlear implantation in the human. *Hearing Research*, 339, 132–141. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2016.06.015>
- Kant, E., Jwair, S., & Thomeer, H. G. X. M. (2022). Hearing preservation in cochlear implant recipients: A cross-sectional cohort study. *Clinical Otolaryngology*, 47(3), 495–499. <https://doi.org/10.1111/coa.13927>
- O'Leary, S. J., Monksfield, P., Kel, G., Connolly, T., Souter, M. A., Chang, A., Marovic, P., O'Leary, J. S., Richardson, R., & Eastwood, H. (2013). Relations between cochlear histopathology and hearing loss in experimental cochlear implantation. *Hearing Research*, 298, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2013.01.012>
- Onafhankelijk Platform Cochleaire Implantatie [Internet]. 2024 [cited 2024 Oct 1]. Aantal implantaties in Nederland t/m 2023. Available from: <https://opciweb.nl/ci-centra/aantal-implantaties-in-nederland-t-m-2023/>
- Parys, Q. A., Bulck, P. Van, Loos, E., & Verhaert, N. (2022). Inner Ear Pharmacotherapy for Residual Hearing Preservation in Cochlear Implant Surgery: A Systematic Review. In *Biomolecules* (Vol. 12, Issue 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/biom12040529>

- Ramekers, D., Versnel, H., Grolman, W., & Klis, S. F. L. (2012). Neurotrophins and their role in the cochlea. In *Hearing Research* (Vol. 288, Issues 1–2, pp. 19–33).
<https://doi.org/10.1016/j.heares.2012.03.002>
- Ramekers, D., Versnel, H., Strahl, S. B., Klis, S. F. L., & Grolman, W. (2015a). Recovery characteristics of the electrically stimulated auditory nerve in deafened guinea pigs: Relation to neuronal status. *Hearing Research*, 321, 12–24. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2015.01.001>
- Ramekers, D., Versnel, H., Strahl, S. B., Klis, S. F. L., & Grolman, W. (2015b). Temporary neurotrophin treatment prevents deafness-induced auditory nerve degeneration and preserves function. *Journal of Neuroscience*, 35(36), 12331–12345. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0096-15.2015>
- Richardson, R. T., Wise, A. K., Thompson, B. C., Flynn, B. O., Atkinson, P. J., Fretwell, N. J., Fallon, J. B., Wallace, G. G., Shepherd, R. K., Clark, G. M., & O’Leary, S. J. (2009). Polypyrrole-coated electrodes for the delivery of charge and neurotrophins to cochlear neurons. *Biomaterials*, 30(13), 2614–2624. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.01.015>
- Schwartz-Leyzac, K. C., & Pfingst, B. E. (2018). Assessing the relationship between the electrically evoked compound action potential and speech recognition abilities in bilateral cochlear implant recipients. *Ear and Hearing*, 39(2), 344–358. <https://doi.org/10.1097/AUD.0000000000000490>
- Shaul, C., Venkatagiri, P. K., Lo, J., Eastwood, H. T., Bester, C. W., Briggs, R. J. S., & O’Leary, S. J. (2019). Glucocorticoid for Hearing Preservation after Cochlear Implantation: A Systemic Review and Meta-analysis of Animal Studies. In *Otology and Neurotology* (Vol. 40, Issue 9, pp. 1178–1185). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/MAO.0000000000002383>
- Soshi, T., Hisanaga, S., Kodama, N., Kanekama, Y., Samejima, Y., Yumoto, E., & Sekiyama, K. (2014). Event-related potentials for better speech perception in noise by cochlear implant users. *Hearing Research*, 316, 110–121. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2014.08.001>
- Steverink, J. G., van Tol, F. R., Oosterman, B. J., Vermonden, T., Verlaan, J. J., Malda, J., & Piluso, S. (2022). Robust gelatin hydrogels for local sustained release of bupivacaine following spinal surgery. *Acta Biomaterialia*, 146, 145–158. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.05.007>
- Szeto, B., Chiang, H., Valentini, C., Yu, M., Kysar, J. W., & Lalwani, A. K. (2020). Inner ear delivery: Challenges and opportunities. In *Laryngoscope Investigative Otolaryngology* (Vol. 5, Issue 1, pp. 122–131). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/lio2.336>
- Turner, C. W., Gantz, B. J., Vidal, C., Behrens, A., & Henry, B. A. (2004). Speech recognition in noise for cochlear implant listeners: Benefits of residual acoustic hearing. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 115(4), 1729–1735. <https://doi.org/10.1121/1.1687425>
- Vink, H. A., Ramekers, D., Thomeer, H. G. X. M., & Versnel, H. (2022). Combined brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 treatment is preferred over either one separately in the preservation of the auditory nerve in deafened guinea pigs. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 15. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.935111>
- Wattamwar, K., Jason Qian, Z., Otter, J., Leskowitz, M. J., Caruana, F. F., Siedlecki, B., Spitzer, J. B., & Lalwani, A. K. (2017). Increases in the rate of age-related hearing loss in the older old. *JAMA Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, 143(1), 41–45. <https://doi.org/10.1001/jamaoto.2016.2661>
- WORLD REPORT ON HEARING. (2021). <https://youtu.be/EmXwAnP9puQ>

3.2 Doel

3.2.1 Beschrijf het directe en het uiteindelijke doel van het project. Beschrijf de bijdrage van het behalen van het directe doel aan het uiteindelijke doel.

- Indien het directe doel bestaat uit verschillende subdoelstellingen, benoem deze dan hier.

Met deze aanvraag wordt met dierproeven in cavia’s getracht een klinisch toepasbare toedieningsmethode te ontwikkelen van medicatie aan de cochlea, die niet aan effectiviteit inboet in vergelijking met bestaande invasieve experimentele methoden, zoals de osmotische pomp.

Het uiteindelijke doel is om te onderzoeken hoe verschillende farmacologische interventies kunnen bijdragen aan het sparen van het restgehoor, om het horen van CI-patiënten te kunnen verbeteren. In drie fases van het experiment zullen de volgende onderzoeksvragen worden onderzocht:

De directe doelen zijn de volgende:

Fase 1:

- Wat is het acute traumatische effect van cochleaire implantatie in normaalhorende cavia's en in cavia's met hoogfrequent gehoorverlies, op de elektrofysiologische potentialen van de cochlea, gemeten met elektrocochleografie (ECochG) en electrically evoked compound action potentials (eCAPs)?

Fase 2:

- Wat is het effect van corticosteroïden behandeling middels GTA hydrogel op cochleaire structuren (haarcellen, steuncellen) na cochleaire implantatie in normaalhorende cavia's?
- Wat is het effect van neurotrofe factoren (BDNF, NT-3 en cocktail van beide) behandeling middels GTA hydrogel op cochleaire structuren (SGC's over de gehele lengte van de cochlea en gehoorzenuw) na cochleaire implantatie in dove cavia's?
- Wat is het effect van corticosteroïden behandeling door middel van een drug-eluting-elektrode van een specifieke CI-fabrikant een langdurige, gereguleerde afgifte van corticosteroiden aan de cochlea te faciliteren, om daarmee cochleaire structuren (haarcellen en steuncellen) tijdens cochleaire implantatie te beschermen in normaalhorende cavia's?

Fase 3:

- Wat is het effect van corticosteroïden behandeling middels GTA hydrogel op cochleaire structuren (haarcellen, steuncellen) na cochleaire implantatie in cavia's met hoogfrequent gehoorverlies?
- Wat is effect van neurotrofe behandeling door middel van een drug-eluting electrode array op (SGC's over de gehele lengte van de cochlea en gehoorzenuw) na cochleaire implantatie in dove cavia's?

3.2.2 Hoe wordt de haalbaarheid van het directe doel gewaarborgd?

De haalbaarheid van het directe doel wordt als volgt gewaarborgd:

Onze onderzoeksgroep, bestaande uit gedreven (arts-)onderzoekers, biofysici en KNO-artsen, heeft ruime ervaring in het uitvoeren van chirurgische procedures, elektrofysiologische metingen en histologische analyse in cavia's. Zij hebben in de afgelopen jaren meermaals soortgelijke dierproeven met succes uitgevoerd (Jwair et al., 2023; Ramekers et al., 2012, 2015; Vink et al., 2022; AVD11500201550 en AVD1150020174315). Met dit multidisciplinaire onderzoeksteam zijn wij ervan overtuigd het project in deze aanvraag succesvol uit te kunnen voeren.

Daarnaast heeft de afdeling een eigen onderzoeksruiimte op het Utrecht Science Park, waar de experimenten op een veilige manier, met de juiste apparatuur, uitgevoerd kunnen worden.

Het project wordt ondersteund door een bedrijf dat cochleaire implantaten voor zowel mensen als exemplaren bruikbaar voor dierproeven produceert. Daarnaast is aanvullende subsidie aangevraagd om het onderzoek naar gehoorsparend cochleair implanteren het komende decennium te kunnen voortzetten.

3.2.3 Is voor de uitvoering van dit project andere wet- en regelgeving van toepassing die een invloed zou kunnen hebben op het welzijn van de dieren en/of de haalbaarheid van het directe doel?

Nee

Ja > Geef aan welke wet- en regelgeving van toepassing is en beschrijf de effecten daarvan op het welzijn van de dieren en de haalbaarheid van het project.

Click or tap here to enter text.

3.3 Belang

3.3.1 Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelen.

Wetenschappelijk:

Dit onderzoek zal zorgen voor nieuwe inzichten op het gebied van toedieningsmethoden voor medicatie aan de cochlea. Daarnaast zullen er nieuwe inzichten ontstaan over het effect van de te onderzoeken toedieningsmethoden op het behoud van restgehoor en de gehoorzenuw. Welke toedieningsmethoden faciliteren een langzame afgifte van medicatie en bieden daarbij voldoende bescherming aan haarcellen en

spirale ganglion cellen van de gehoorzenuw? Andere onderzoeksgroepen kunnen gebruik maken van de openbaar gepubliceerde artikelen en data.

Maatschappelijk:

Behoud van akoestisch restgehoor geeft verbeterde uitkomsten op spraakverstaan van doven en slechthorenden met een CI. Op die manier zouden CI-patiënten in de toekomst beter kunnen genieten van het luisteren naar muziek en gemakkelijker gesprekken kunnen voeren in drukke ruimtes met achtergrond rumoer. Dit zou de sociale interactie en maatschappelijke participatie van CI-patiënten aanzienlijk kunnen verbeteren.

3.3.2 Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden wat hun belang is.

De belanghebbenden binnen dit project zijn:

1. De cavia's hebben het belang om niet als proefdier te worden gebruikt voor het onderzoek. Daarom proberen we een optimaal aantal cavia's in te zetten (niet onnodig veel, niet te weinig ten koste van de wetenschappelijke waarde), en proberen we verfijning van methoden toe te passen en zullen we het welzijn met oog op humane eindpunten zorgvuldig monitoren.
2. Patiënten die in de toekomst een cochleair implantaat krijgen, aangezien zij door het beter kunnen sparen van het restgehoor, meer gebruik kunnen maken van de combinatie van het akoestisch-elektrisch horen. Daarmee zullen zij verbetering van het spraakverstaan ervaren, waardoor zij makkelijker mee kunnen komen in sociale situaties en prettiger naar muziek kunnen luisteren.
3. Onderzoekers op het gebied van cochleaire implantatie, omdat elke voortuitgang op dit gebied hun eigen onderzoeken ook zal bevorderen.
4. KNO-artsen, aangezien zij in de toekomst hun dove en slechthorende patiënten beter kunnen behandelen, doordat het plaatsen van een CI een betere uitkomst zal hebben op het herstellen van het gehoor en het spraakverstaan.
5. CI-fabrikanten, aangezien doven en slechthorenden in de toekomst beter effect zullen ervaren van hun cochleaire implantaten. Dit geeft hopelijk een hogere tevredenheid onder CI-gebruikers.

3.4 Strategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project. Besteed aandacht aan de eventuele fasering in de uitvoering en de samenhang. Vermeld eventuele mijlpalen, keuzemomenten en beslisriteria.

Onderzoeksvragen

Fase 1:

- Wat is het acute traumatische effect van cochleaire implantatie in normaalhorende cavia's en in cavia's met hoogfrequent gehoorverlies, op de elektrofyysiologische potentialen van de cochlea, gemeten met ECochG en electrically evoked compound action potentials (eCAPs)?

Fase 2:

- Wat is het effect van corticosteroïden behandeling middels GTA hydrogel op cochleaire structuren (haarcellen, steuncellen) na cochleaire implantatie in normaalhorende cavia's?
- Wat is het effect van neurotrofe factoren (BDNF, NT-3 en cocktail van beide) behandeling middels GTA hydrogel op cochleaire structuren (SGC's over de gehele lengte van de cochlea en gehoorzenuw) na cochleaire implantatie in dove cavia's?
- Wat is het effect van corticosteroïden behandeling door middel van een drug-eluting-elektrode van een specifieke CI-fabrikant een langdurige, gereguleerde afgifte van corticosteroiden aan de cochlea te faciliteren, om daarmee cochleaire structuren (haarcellen en steuncellen) tijdens cochleaire implantatie te beschermen in normaalhorende cavia's?

Fase 3:

- Wat is het effect van corticosteroïden behandeling middels GTA hydrogel op cochleaire structuren (haarcellen, steuncellen) na cochleaire implantatie in cavia's met hoogfrequent gehoorverlies?
- Wat is effect van neurotrofe behandeling door middel van een drug-eluting electrode array op (SGC's over de gehele lengte van de cochlea en gehoorzenuw) na cochleaire implantatie in dove cavia's?

Primaire uitkomstmaten	
Elektrofysiologie: Electrocochleografie ECochG	Compound action potentials (CAPs): drempelwaarden in dB, amplitude in μV , latentie in ms; Cochleaire microfonie (CM): drempelwaarden in dB, amplitude in μV , fase in radialen.
Elektrofysiologie: Electrically evoked compound action potentials eCAPs:	Amplitude in μV , drempel in μA , latentie in ms;
Histologie	Haarcellen: aantallen
	Spirale ganglioncellen (SGC's): dichtheid in aantal/ mm^2 .
Secundaire uitkomstmaten	
Elektrofysiologie: Auditieve hersenstampotentialen (ABRs)	Drempelwaarden in dB;
Elektrofysiologie: Impedanties	Weerstand in $\text{k}\Omega$.
Histologie	Perifere uitlopers van spirale ganglioncellen: dichtheid in aantal/ $100 \mu\text{m}^2$
	Fibrose, ossificatie
Tabel 1. Primaire en secundaire uitkomstmaten	

Strategie

Fase 0: Training in restmateriaal van cavia's en levende cavia's

Restmateriaal:

Er wordt vanaf augustus 2024, tot aan de start van het experiment door alle betrokken onderzoekers getraind op restmateriaal van cavia's. Deze training bestaat uit trainen met het protocol van cochleaire implantatie in cavia's (eerder gebruikt bij onderzoeken AVD11500201550; Ramekers et al., 2022; en AVD1150020174315; Vink et al., 2022). Daarnaast wordt er veel aandacht besteed aan het verfijnen en vernieuwen van dit protocol. Daarnaast biedt deze trainingsfase veel tijd voor het beoordelen van de kwaliteit van alle operatie- en meetmaterialen, zodat verouderd materiaal voor de start van het daadwerkelijke experiment vervangen kan worden.

GO: Er wordt getraind op restmateriaal tot alle onderzoekers bekwaam zijn. Bekwaamheid wordt beoordeeld door cochlea's van restmateriaal van cavia's histologisch te beoordelen op tijdens de operatie aangerichte schade. Hiertoe wordt de Eshraghi categorisatie gebruikt (Eshraghi, 2006).

Levende cavia's:

Voor het trainen in het gebruik van cavia anesthesie (met name het laten wakker worden uit de narcose), het oefenen van het toedienen van de doofmakende behandeling en het trainen in het protocol van elektrofysiologische metingen, is het noodzakelijk om op levende cavia's te oefenen. Daarnaast wordt het verfijnde cochleaire implantatie protocol ook op levende dieren getraind. Er zullen voor dit trainingsdoeleinde extra dieren worden opgenomen in de aantallen, vermeld onder het daarvoor bestemde kopje in de bijlage.

GO: Bekwaamheid wordt in levende cavia's beoordeeld door de drempelwaarden van elektrofysiologische metingen van de haarcellen en gehoorzenuw (ECochG en eCAP) na cochleaire implantatie te bekijken. Wanneer deze drempels hoger dan 40 dB SPL bij ECochG meting met gouden bal (voor insertie van elektrode array) zijn, concluderen we dat er sprake is van extra schade (Jwair et al., 2023).

Fase 1: Acute experimenten

In fase 1 worden acute experimenten gedaan met als doel om de mate van acute schade van cochleaire implantatie in normaalhorende cavia's en in cavia's met hoogfrequent gehoorverlies, op de

elektrofysiologische potentialen van de cochlea, gemeten met ECoChG en eCAPs te bepalen. Zie **tabel 1** voor primaire en secundaire uitkomstmaten.

Aan het einde fase 1 geldt bij zowel **GO**, als **NO GO** voor doorgang naar fase 2, dat de resultaten van de elektrofysiologische metingen van fase 1 gebruikt kunnen worden voor analyse. Fase 1 vormt dus een volwaardige acute studie, waarvan de data relevant en publiceerbaar zal zijn.

GO: voor doorgang naar fase 2: De mate van trauma wordt beoordeeld door de drempelwaarden met ECoChG na cochleaire implantatie te bekijken. Net zoals in fase 0, mogen deze drempels (gemeten met goudenbal elektrode vanaf het ronde venster, voor insertie van de elektrode array) niet hoger dan 40 dB SPL zijn (Jwair et al., 2023). Hoge drempels betekenen veel schade. Na insertie van elektrode array mag er geen grotere drempelverschuiving zijn dan 30 dB. Fase 2 kan parallel aan fase 1 starten, wanneer in minimaal vijf cavia's initiële ECoChG drempels <40 dB SPL gevonden worden en na insertie kleinere drempelverschuivingen dan 30 dB. Wanneer uiteindelijk na voltooiing van fase 1 in de helft van alle cavia's initiële ECoChG drempels <40 dB SPL gevonden worden en kleinere drempelverschuivingen dan 30 dB na insertie elektrode array, kan fase 2 van start.

NO GO: Bij drempels ECoChG meting met goudenbal (voor insertie van elektrode array) >40 dB SPL of drempelverschuivingen > 30 dB na array insertie in meer dan vijf van de cavia's, vindt er nog geen doorgang naar fase 2 plaats. In dit geval kan fase 1 wel verder uitgevoerd worden, aangezien het een volwaardig experiment omvat met relevante, publiceerbare data.

Fase 2: Chronische experimenten

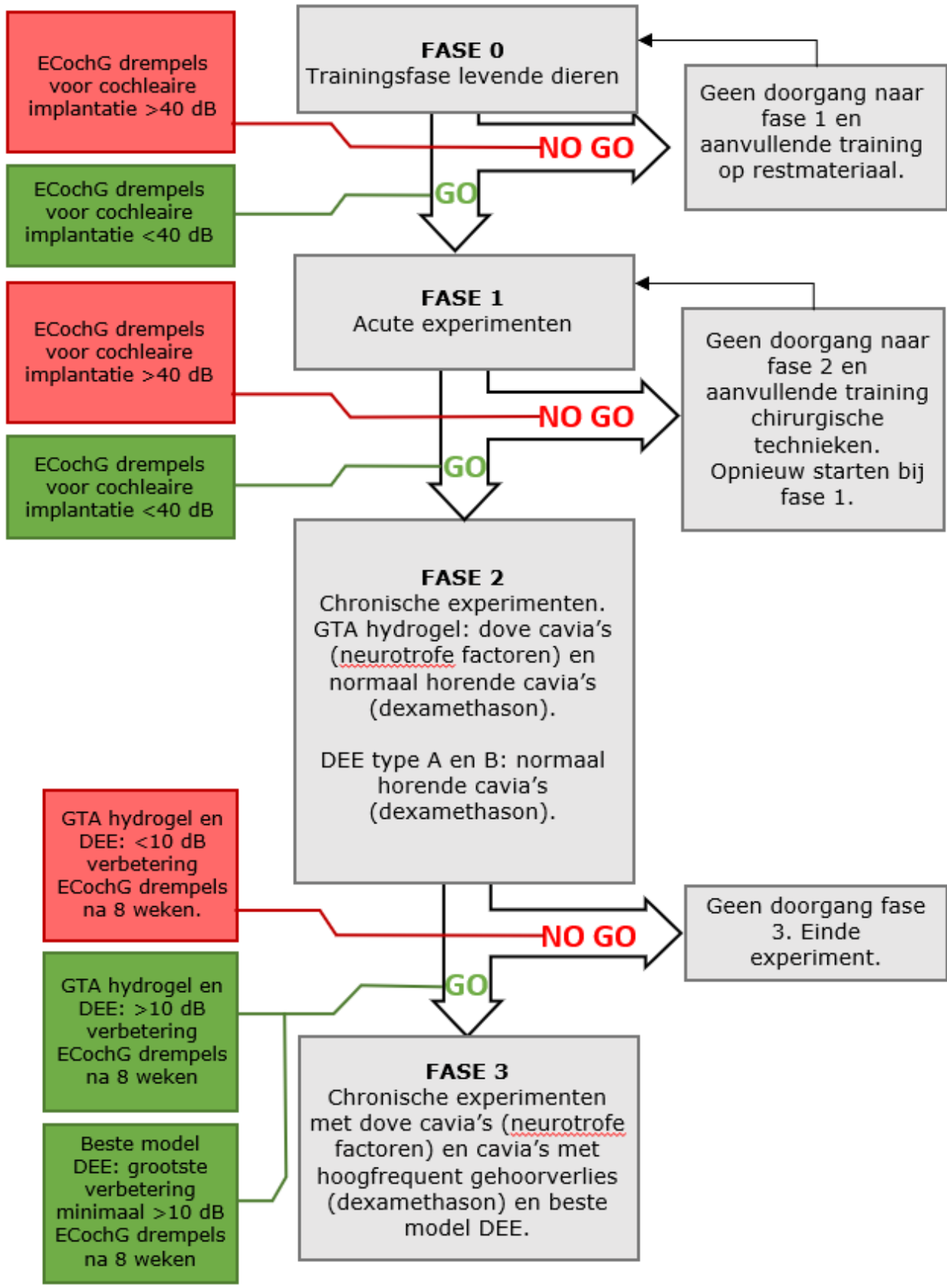
In fase 2 worden in 9 subgroepen cavia's chronische experimenten uitgevoerd. In 5 groepen (B1-B5) wordt met GTA hydrogel geëxperimenteerd. In 4 groepen (B6-B9) wordt met twee modellen (A en B) drug-eluting elektrode arrays (DEE) geëxperimenteerd. De uitkomsten van de elektrofysiologische ECoChG en eCAP metingen en de histologische analyses worden tussen de verschillende groepen vergeleken, om te achterhalen wat het effect van verschillende farmacologische middelen, afgegeven vanuit een depot GTA hydrogel of DEE, is op het behoud van cochleaire structuren. Zie **tabel 1** voor primaire en secundaire uitkomstmaten.

GO: voor doorgang naar fase 3: chronische experiment met cavia's met hoogfrequent gehoorverlies, met het beste model DEE (A of B). Fase 2 DEE experiment is succesvol wanneer ECoChG drempels over de gehele 8 weken met minimaal met 10 dB zijn verbeterd. Uit onze ruime ervaring met deze metingen in cavia's, is namelijk bekend dat een verbetering van <10 dB niet relevant is. Het beste model DEE (A of B) is dan het model dat de grootste verbetering van drempels >10 dB geeft.

NO GO: Bij verbetering <10 dB dan vindt er geen doorgang naar fase 3. Hiermee is het einde van het chronische experiment bereikt.

Fase 3: Voortzetting chronische experimenten

In fase 3 wordt in 3 groepen (C1-C3) verder geëxperimenteerd met GTA hydrogel en een drug-eluting elektrode array. Er wordt in groep C1 en C2 geëxperimenteerd met cavia's met hoogfrequent gehoorverlies en laagfrequent restgehoor. In groep C3 wordt geëxperimenteerd met compleet dove cavia's. In groepen C2 en C3 wordt met het "beste model DEE" geëxperimenteerd. Welk model het beste is, wordt bepaald door te bepalen welk model A of B in fase 2 de grootste verbetering van ECoChG drempels laat zien (na 8 weken). De verbetering moet minimaal 10 dB zijn, dan noemen we het een succesvol resultaat. Zie **tabel 1** voor primaire en secundaire uitkomstmaten.



Figuur 5. Stroomschema fasen 0, 1, 2 en 3 van experiment, inclusief GO/NO GO momenten.

3.4.2 Onderbouw de gekozen strategie.

Het uiteindelijke doel is om te onderzoeken hoe verschillende medicamenteuze interventies kunnen bijdragen aan het sparen van het akoestisch restgehoor rondom cochleaire implantatie, om het horen van CI-patiënten te kunnen verbeteren. Op basis van beschikbare literatuur en het voorgaande onderzoek in cavia modellen van onze groep, wordt er gekozen om neurotrofe factoren en dexamethason als interventies te onderzoeken. Hierbij het is doel de eerdere toedieningsmethoden te verbeteren en een klinisch toepasbare toedieningsmethode te ontwikkelen voor corticosteroiden en neurotrofe factoren aan de cochlea, die niet aan effectiviteit inboet in vergelijking met bestaande invasieve experimentele methoden (zoals de osmotische pomp). Nieuwe toedieningsmethoden die in deze aanvraag worden onderzocht zijn GTA hydrogel en drug-eluting elektrode arrays (model A en B). Het onderzoek wordt opgedeeld in vier fasen (0-3), met vooraf een uitgebreide trainingsfase op restmateriaal en daarna op levende dieren, om de onderzoekers goed te trainen in het uitvoeren van de operaties en elektrofysiologische metingen. Ook wordt daarmee het totale aantal proefdieren beperkt, aangezien er minder dieren zullen uitvallen door operatiecomplicaties. Bij elk beslismoment wordt kritisch bekeken of doorgang naar de volgende fase plaats kan vinden.

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

Volgnummer	Titel bijlage Beschrijving dierproef
1	Nieuwe toedieningsmethodes van medicijnen aan de cochlea bij cochleaire implantatie
2	Click or tap here to enter text.
3	Click or tap here to enter text.
4	Click or tap here to enter text.
5	Click or tap here to enter text.
6	Click or tap here to enter text.
7	Click or tap here to enter text.
8	Click or tap here to enter text.
9	Click or tap here to enter text.
10	Click or tap here to enter text.



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u in de 'Toelichting op de te gebruiken formulieren voor de aanvraag van een projectvergunning' op de website www.centralecommissiedierproeven.nl
- Of neem telefonisch contact op (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	11500	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	UMC Utrecht	
1.3	Vul het volgnummer en de titel van de dierproef in. <i>Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.3 van het format Projectvoorstel.</i>	Volgnummer	Titel dierproef
		1	Nieuwe toedieningsmethodes van medicijnen aan de cochlea bij cochleaire implantatie

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Doel

Met deze aanvraag wordt met dierproeven in cavia's getracht een klinisch toepasbare toedieningsmethode te ontwikkelen van medicatie aan de cochlea, die niet aan effectiviteit inboet in vergelijking met bestaande invasieve experimentele methoden. Het uiteindelijke doel is om te onderzoeken hoe verschillende farmacologische interventies kunnen bijdragen aan het sparen van het restgehoor, om het horen van patiënten met een cochleair implantaat te kunnen verbeteren.

Onderzoeksvragen, algemene aanpak en primaire en secundaire uitkomstparameters

Het gehele experiment kan worden opgesplitst in vier fasen: fase 0-3. Zie **figuur 7** voor het gehele overzicht van de experimentele groepen. Alle fasen hebben dezelfde primaire en secundaire uitkomstparameters. Hieronder worden deze in **tabel 1** weergegeven, zodat in de beschrijving van de experimenten naar deze tabel verwezen kan worden.

Primaire uitkomstmaten	
Elektrofysiologie: Electrocochleografie ECochGs	Compound action potentials (CAPs): drempelwaarden in dB, amplitude in μV , latentie in ms; Cochleaire microfonie (CM): drempelwaarden in dB, amplitude in μV , fase in radialen.
Elektrofysiologie: Electrically evoked compound action potentials eCAPs:	Amplitude in μV , drempel in μA , latentie in ms;
Histologie	Haarcellen: aantallen
	Spirale ganglioncellen (SGC's): dichtheid in aantal/ mm^2 .
Secundaire uitkomstmaten	
Elektrofysiologie: Auditieve hersenslampotentialen (ABRs)	Drempelwaarden in dB;
Elektrofysiologie: Impedanties	Weerstand in $\text{k}\Omega$.
Histologie	Perifere uitlopers van spirale ganglioncellen: dichtheid in aantal/ $100 \mu\text{m}^2$
	Fibrose, ossificatie
Tabel 1. Primaire en secundaire uitkomstmaten	

Fase 0: Training in restmateriaal van cavia's en levende cavia's

In fase 0 wordt er als eerste getraind op restmateriaal van cavia's van andere onderzoeken. Deze training is bedoeld om de onderzoekers bekwaam te maken met het uitvoeren van de cochleaire implantatie operatie en te trainen met het opwerken van cochlea's voor histologie.

In levende cavia's (groep T) wordt getraind met het induceren van en laten ontwaken uit de narcose, het uitvoeren van de cochleaire implantatie operatie, de elektrofysiologische metingen (elektrocochleografie en electrically evoked compound action potentials) en met praktische vaardigheden zoals injecteren. Aangezien hierbij de methodiek van fase 1 wordt aangehouden, zie informatie onder fase 1 Zie **tabel 2** onder B voor overzicht van onderzoeksgroep T.

Fase 1: Acuut experiment

In fase 1 worden acute experimenten gedaan, wat een acuut terminaal experiment omvat. Er wordt in twee groepen (A1 en A2) geëxperimenteerd op normaal horende cavia's en in cavia's met hoogfrequent gehoorverlies. Er is in dit experiment geen medicamenteuze interventie.

Onderzoeksvraag

Wat is het acute traumatische effect van cochleaire implantatie in normaalhorende cavia's en in cavia's met hoogfrequent gehoorverlies, op de elektrofysiologische potentialen van de cochlea, gemeten met elektrocochleografie (ECochG) en electrically evoked compound action potentials (eCAP)?

Beschrijving

De cavia's in groep A1 blijven normaalhorend. In de cavia's in groep A2 worden op dag 0 eerst auditory brainstem responses (ABR) gemeten om het gehoor voor doofmakende behandeling te bepalen. Wanneer het gehoor als normaal wordt bestempeld, krijgen de cavia's van groep A2 een doof makende behandeling waardoor hoogfrequent gehoorverlies ontstaat. Bij +2 weken worden alle cavia's onder narcose gebracht, waarna ABRs worden gemeten. Daarmee wordt in de normaalhorende cavia's gecontroleerd of zij daadwerkelijk normaalhorend zijn. In cavia's met hoogfrequent gehoorverlies wordt het effect van de doofmakende behandeling gecontroleerd. Daarna worden de cavia's geopereerd om een cochleair implantaat te plaatsen. Daarna volgen de extracochleaire ECochG metingen vanaf het ronde venster, gemeten met een gouden bal elektrode. Vervolgens ondergaan de cavia's cochleaire implantatie aan één oor. Als het cochleair implantaat eenmaal ingebracht is, wordt intracochleair ECochG en eCAP gemeten met de elektrode array. Extra- en intracochleaire ECochG worden gemeten met verschillende frequenties en verschillende geluidsterktes. Daarna worden de cavia's geëthanaseerd en worden de cochlea's opgewerkt voor histologische analyse.

Uitkomstmaten

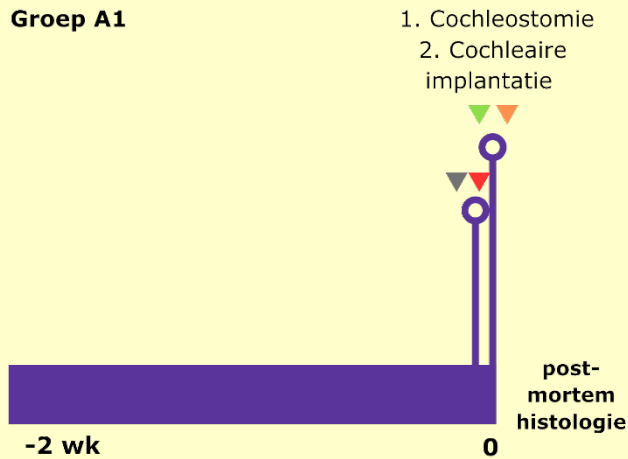
Voor primaire en secundaire uitkomstmaten zie **tabel 1**.

Tijdsschema en groepen

Zie **figuren 1 en 2** voor voorbeelden van tijdsschema's van fase 2.

Zie **tabel 3** onder B van de DAP voor een overzicht van de experimentele groepen van fase 1.

Groep A1

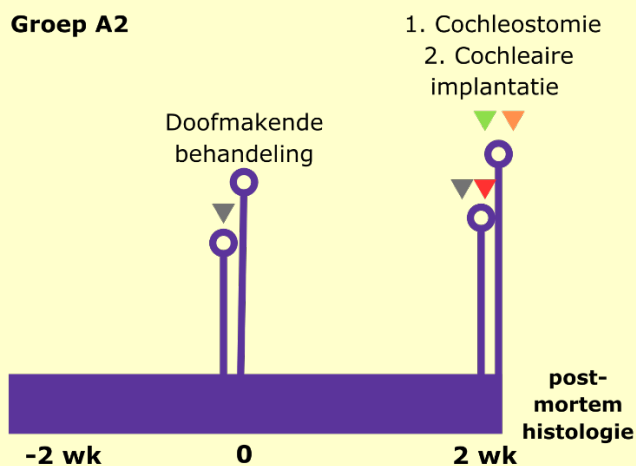


Elektrofysiologische metingen:

- ▼ ABRs
- ▼ Extracochleaire ECoChG via ronde bal elektrode
- ▼ Intracochleaire ECoChG via elektrode array
- ▼ eCAP

Figuur 1. Voorbeeld van tijdsschema fase 1: acute experimenten groep A1.

Groep A2



Elektrofysiologische metingen:

- ▼ ABRs
- ▼ Extracochleaire ECoChG via ronde bal elektrode
- ▼ Intracochleaire ECoChG via elektrode array
- ▼ eCAP

Figuur 2. Voorbeeld van tijdsschema fase 1: acute experimenten groep A2.

Fase 2: Chronische experimenten

In fase 2 worden chronische experimenten uitgevoerd, met zowel GTA hydrogel, als een drug-eluting elektrode array. Er wordt geëxperimenteerd met corticosteroiden in normaalhorende cavia's en neurotrofe factoren in dove cavia's.

Onderzoeksvragen

- Wat is het effect van corticosteroiden behandeling middels GTA hydrogel op cochleaire structuren (haarcellen, steuncellen) na cochleaire implantatie in normaalhorende cavia's?
- Wat is het effect van neurotrofe factoren (BDNF, NT-3 en cocktail van beide) behandeling middels GTA hydrogel op cochleaire structuren (SGC's over de gehele lengte van de cochlea en gehoorzenuw) na cochleaire implantatie in dove cavia's?
- Wat is het effect van corticosteroiden behandeling door middel van een drug-eluting-elektrode van een specifieke CI-fabrikant een langdurige, gereguleerde afgifte van corticosteroiden aan de cochlea te faciliteren, om daarmee cochleaire structuren (haarcellen en steuncellen) tijdens cochleaire implantatie te beschermen in normaalhorende cavia's?

Beschrijving

In 5 groepen cavia's (B1-B5) wordt met GTA hydrogel geëxperimenteerd. In 4 groepen cavia's (B5-B9) wordt met twee modellen drug-eluting elektrode arrays (DEE) geëxperimenteerd. Het effect van neurotrofe factoren (BDNF, NT-3 en de cocktail van beiden) op de SGC's van de gehoorzenuw wordt onderzocht in dove cavia's met compleet haarcelverlies, aangezien er dan geen sprake meer is van natuurlijke neurotrofe ondersteuning vanuit de haarcellen. Het effect van dexamethason wordt in normaalhorende cavia's onderzocht, aangezien er functionerende haarcellen aanwezig moeten zijn in de cochlea om mogelijk een beschermend effect op te zien.

De cavia's in groep B1 en B5-B9 blijven normaalhorend. In de cavia's in groepen B5-B9 worden op dag 0 eerst auditory brainstem responses (ABR) gemeten om het gehoor voor doofmakende behandeling te bepalen. Wanneer het gehoor als normaal wordt bestempeld, krijgen de cavia's een doof makende behandeling waardoor hoogfrequent gehoorverlies ontstaat. Bij +2 weken worden alle cavia's worden onder narcose gebracht, waarna ABR worden gemeten. Daarmee wordt in de normaalhorende cavia's gecontroleerd of zij daadwerkelijk normaalhorend zijn. In de dove cavia's wordt het effect van de doofmakende behandeling gecontroleerd. Daarna volgen de extracochleaire ECochG metingen vanaf het ronde venster, gemeten met een gouden bal elektrode.

Vervolgens ondergaan de cavia's cochleaire implantatie aan één oor. Groepen B1-B5 worden geïmplanteerd met een normaal model cochleair implantaat. In dezelfde operatie, wordt na implantatie van de elektrode array in dezelfde cochlea een depot hydrogel, met daarin fysiologisch zout (groep B1), BDNF (groep B2), NT-3 (groep B3) een cocktail van BDNF en NT-3 (groep B4) of dexamethason (groep B5), achtergelaten. Cavia's in groepen B6-B9 krijgen een drug-eluting elektrode geïmplanteerd. Er wordt met twee modellen DEE geëxperimenteerd: model A en B. Deze elektrode arrays zijn omhuld met een speciale laag, die verschillende medicijnen kan afgeven. Groep B6 krijgt een DEE model A met fysiologisch zout, groep B7 krijgt een DEE model A met dexamethason, groep B8 krijgt een DEE model B met fysiologisch zout en groep B9 krijgt een DEE model B met dexamethason. Als het cochleair implantaat eenmaal ingebracht is, wordt intracochleair ECochG en eCAP gemeten met de elektrode array. Extra- en intracochleaire ECochG worden gemeten met verschillende frequenties en verschillende geluidsstreks. Na de laatste ECochG en eCAP metingen worden de cavia's wakker uit de narcose.

De ECochG en eCAP metingen worden bij +4 weken, +6 weken en tot slot bij +8 weken in wakkere toestand herhaald, om daarmee veranderingen in ECochG en eCAP in de loop van zes weken te monitoren. Na 8 weken worden de cavia's geëuthanaseerd en worden allecochlea's opgewerkt voor histologie.

Uitkomstmaten

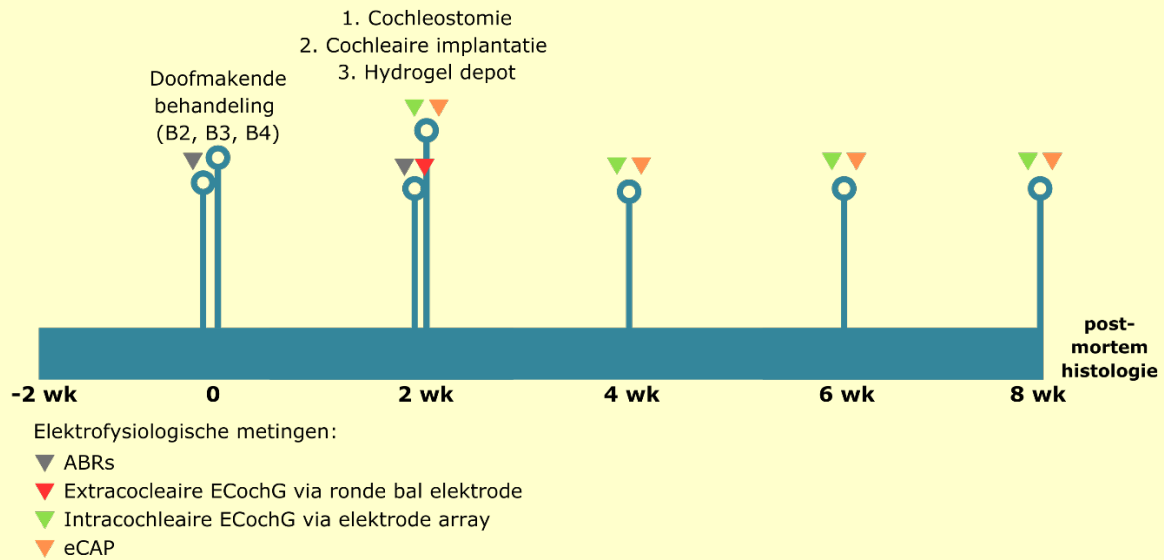
Voor primaire en secundaire uitkomstmaten zie **tabel 1**.

Tijdsschema en groepen

Zie **figuren 3 en 4** voor voorbeelden van tijdsschema's van fase 2.

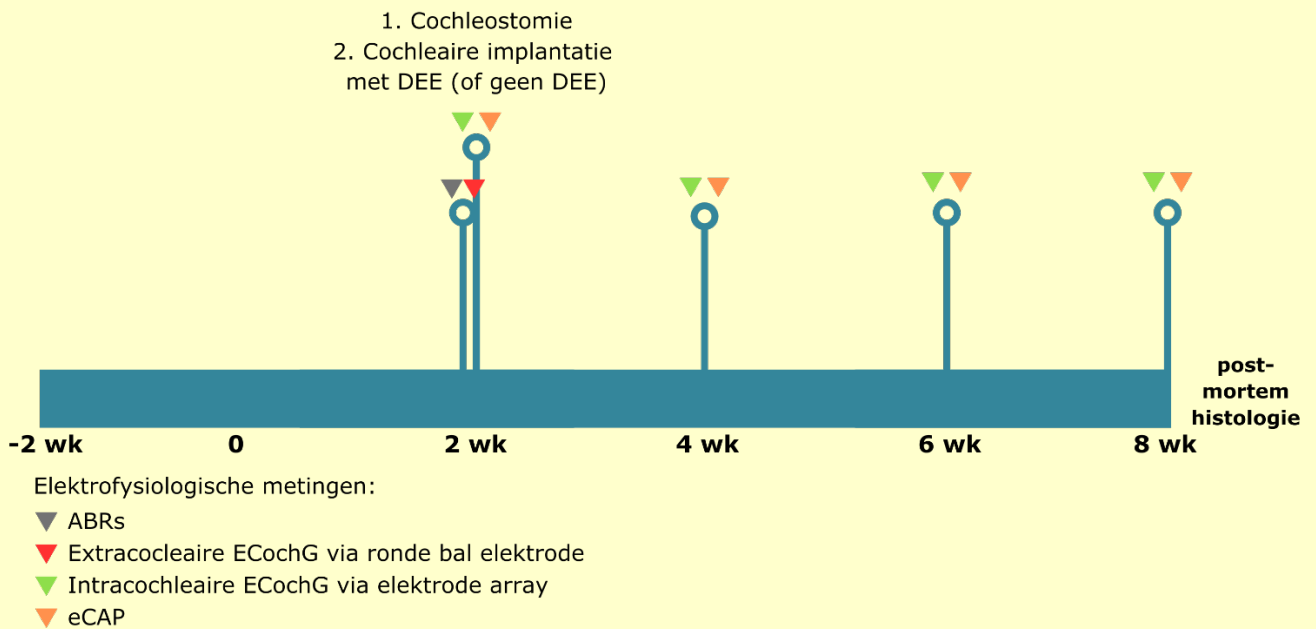
Zie **tabel 4** onder B van de DAP voor een overzicht van de experimentele groepen van fase 2.

Groepen B1-B5



Figuur 3. Voorbeeld van tijdschema fase 2: chronische experimenten met GTA hydrogel (groep B1-B5)

Groepen B5-B9



Figuur 4. Voorbeeld van tijdschema fase 2: chronische experimenten met drug-eluting elektrodes (DEE) (groep B6-B9)

Fase 3: Chronische experimenten

In fase 3 wordt wederom geëxperimenteerd met GTA hydrogel en drug-eluting-elektrode (model A of B, afhankelijk van welke in fase 2 het beste is gebleken). De experimentele groepen in fase 3 zijn anders, maar verder is de methode vergelijkbaar met fase 2. Het "beste model DEE" wordt bepaald door te bepalen welk model

A of B in fase 2 de grootste verbetering van ECochG drempels laat zien. De verbetering in drempels moet minimaal 10 dB zijn, dan noemen we het een succesvol resultaat.

Er wordt in groep C1 en C2 geëxperimenteerd met cavia's met hoogfrequent gehoorverlies. De corticosteroïden worden getest in cavia's met hoogfrequent gehoorverlies en de neurotrofe factoren in dove cavia's. Het effect van neurotrofe factoren (BDNF, NT-3 en de cocktail van beiden) op de SGC's van de gehoorzenuw wordt onderzocht in dove cavia's met compleet haarcelverlies, aangezien er dan geen sprake meer is van natuurlijke neurotrofe ondersteuning vanuit de haarcellen.

Onderzoeksvragen

1. Wat is het effect van corticosteroïden behandeling middels GTA hydrogel op cochleaire structuren (haarcellen, steuncellen) na cochleaire implantatie in cavia's met hoogfrequent gehoorverlies?
2. Wat is effect van neurotrofe behandeling door middel van een drug-eluting electrode array op (SGC's over de gehele lengte van de cochlea en gehoorzenuw) na cochleaire implantatie in dove cavia's?

Beschrijving

Op dag 0 worden eerst auditory brainstem responses (ABR) gemeten om het gehoor voor doofmakende behandeling te bepalen. Wanneer het gehoor als normaal wordt bestempeld, krijgen de cavia's in groep C1 krijgen een doofmakende behandeling, die complete doofheid veroorzaakt. De cavia's in groep C2 en C3 krijgen een doofmakende behandeling, die hoogfrequent gehoorverlies veroorzaakt.

Na nog eens twee weken worden de cavia's onder narcose gebracht, waarna ABR metingen opnieuw worden verricht. In cavia's met hoogfrequent gehoorverlies wordt het effect van de doofmakende behandeling gecontroleerd. Daarna volgen de extracochleaire ECochG metingen vanaf het ronde venster, gemeten met een gouden bal elektrode. Vervolgens ondergaan de cavia's cochleaire implantatie aan één oor.

Cavia's in groep C1 worden geïmplanteerd met een op maat gemaakte cavia elektrode array in een normaal model. In dezelfde operatie, wordt na implantatie van de elektrode array in de geïmplanteerde cochlea van de cavia's een depot hydrogel, met daarin dexamethason achtergelaten. Cavia's in groepen C2 en C3 krijgen een DEE geïmplanteerd (type A of B zal bepaald worden na fase 2). Groep C2 krijgt een DEE met dexamethason en groep C3 krijgt een DEE met neurotrofe factoren. Vervolgens worden er in alle groepen C1-C3 intracochleaire ECochG en eCAP metingen verricht middels de elektrode array in de cochlea. Na de laatste elektrofysiologische metingen, worden de cavia's wakker uit de narcose. De ECochG en eCAP metingen worden bij +4 weken, +6 weken en tot slot bij +8 weken in wakkere toestand herhaald, om daarmee veranderingen in ECochG en eCAP in de loop van zes weken te monitoren. Na 8 weken worden de cavia's geëuthanaseerd en worden alle cochlea's opgewerkt voor histologie.

Uitkomstmaten

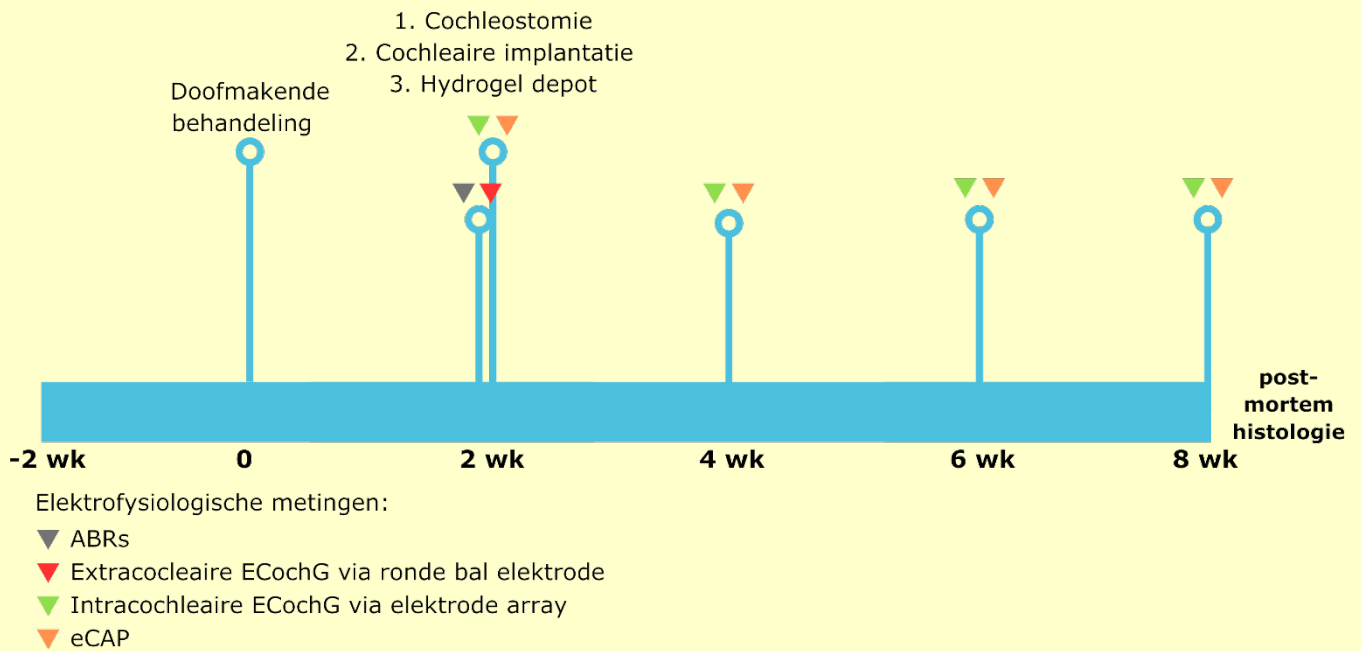
Voor primaire en secundaire uitkomstmaten zie **tabel 1**.

Tijdsschema en groepen

Zie **figuren 5 en 6** voor voorbeelden van tijdsschema's van fase 3.

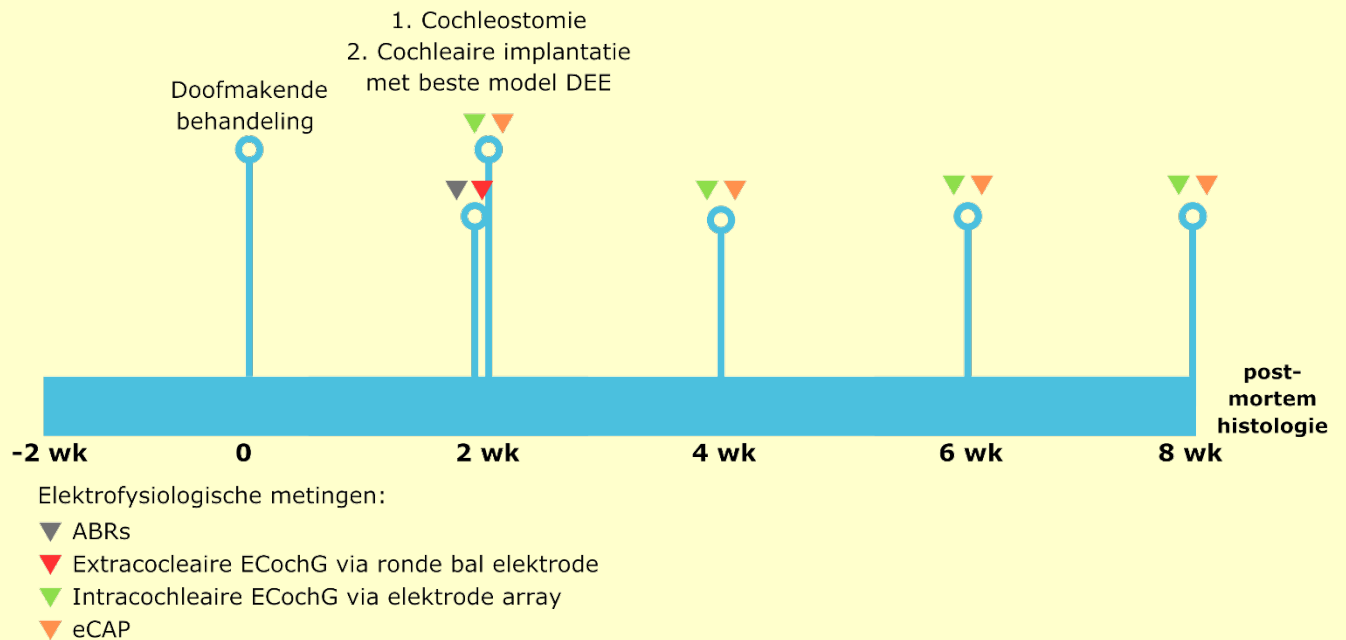
Zie **tabel 4** onder B van de DAP voor een overzicht van de experimentele groepen van fase 3.

Groep C1

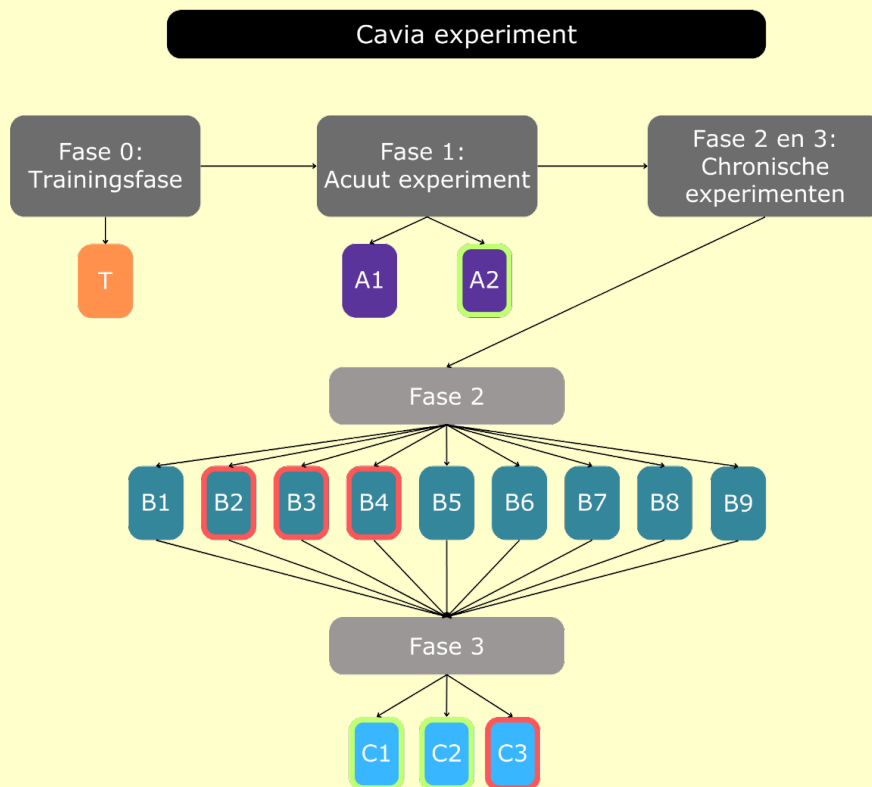


Figuur 5. Voorbeeld van tijdschema fase 3: chronische experimenten met GTA hydrogel (groep C1)

Groepen C2 en C3



Figuur 6. Voorbeeld van tijdschema fase 3: chronische experimenten met drug-eluting elektrode (DEE) (groep C2 en C3).



Figuur 7. Overzicht van alle het gehele experiment. Fase 0 trainingsfase. Fase 1 acuut experiment. Fase 2 en 3 chronische experimenten. Groenomringde vakken zijn groepen cavia's die een doofmakende behandeling krijgen die hoogfrequent gehooverlies veroorzaakt. Roodomringde vakken zijn groepen cavia's die een doofmakende behandeling krijgen die complete doofheid veroorzaakt. Vakken zonder rand zijn groepen normaalhoorende cavia's.

Referenties (voor het gehele document):

Bas, E., Bohorquez, J., Goncalves, S., Perez, E., Dinh, C. T., Garnham, C., Hessler, R., Eshraghi, A. A., & Van de Water, T. R. (2016). Electrode array-eluted dexamethasone protects against electrode insertion trauma induced hearing and hair cell losses, damage to neural elements, increases in impedance and fibrosis: A dose response study. *Hearing Research*, 337, 12–24. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2016.02.003>

Bremer, H. G., de Groot, J. C. M. J., Versnel, H., & Klis, S. F. L. (2012). Combined Administration of Kanamycin and Furosemide Does Not Result in Loss of Vestibular Function in Guinea Pigs. *Audiology and Neurotology*, 17(1), 25–38. <https://doi.org/10.1159/000327256>

Eshraghi, A. A. (2006). Prevention of cochlear implant electrode damage. *Current Opinion in Otolaryngology & Head & Neck Surgery*, 14(5), 323–328. <https://doi.org/10.1097/01.moo.0000244189.74431.df>

Havenith, S., Klis, S. F. L., Versnel, H., & Grolman, W. (2013). A Guinea Pig Model of Selective Severe High-Frequency Hearing Loss. *Otology & Neurotology*, 34(8), 1510–1518. <https://doi.org/10.1097/MAO.0b013e3182942240>

Havenith, S., Versnel, H., Agterberg, M. J. H., de Groot, J. C. M. J., Sedee, R.-J., Grolman, W., & Klis, S. F. L. (2011). Spiral ganglion cell survival after round window membrane application of brain-derived neurotrophic factor using gelfoam as carrier. *Hearing Research*, 272(1–2), 168–177. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2010.10.003>

Jwair, S., Ramekers, D., Thomeer, H. G. X. M., & Versnel, H. (2023). Acute effects of cochleostomy and electrode-array insertion on compound action potentials in normal-hearing guinea pigs. *Frontiers in Neuroscience*, 17. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.978230>

- Ramekers, D., Benav, H., Klis, S. F. L., & Versnel, H. (2022). Changes in the Electrically Evoked Compound Action Potential over time After Implantation and Subsequent Deafening in Guinea Pigs. *Journal of the Association for Research in Otolaryngology*, 23(6), 721–738. <https://doi.org/10.1007/s10162-022-00864-0>
- Ramekers, D., Versnel, H., Strahl, S. B., Klis, S. F. L., & Grolman, W. (2015a). Recovery characteristics of the electrically stimulated auditory nerve in deafened guinea pigs: Relation to neuronal status. *Hearing Research*, 321, 12–24. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2015.01.001>
- Ramekers, D., Versnel, H., Strahl, S. B., Klis, S. F. L., & Grolman, W. (2015b). Temporary neurotrophin treatment prevents deafness-induced auditory nerve degeneration and preserves function. *Journal of Neuroscience*, 35(36), 12331–12345. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0096-15.2015>
- Ramekers, D., Versnel, H., Strahl, S. B., Smeets, E. M., Klis, S. F. L., & Grolman, W. (2014). Auditory-Nerve Responses to Varied Inter-Phase Gap and Phase Duration of the Electric Pulse Stimulus as Predictors for Neuronal Degeneration. *Journal of the Association for Research in Otolaryngology*, 15(2), 187–202. <https://doi.org/10.1007/s10162-013-0440-x>
- Renier, N., Wu, Z., Simon, D. J., Yang, J., Ariel, P., & Tessier-Lavigne, M. (2014). iDISCO: A Simple, Rapid Method to Immunolabel Large Tissue Samples for Volume Imaging. *Cell*, 159(4), 896–910. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.10.010>
- Versnel, H., Agterberg, M. J. H., de Groot, J. C. M. J., Smoorenburg, G. F., & Klis, S. F. L. (2007). Time course of cochlear electrophysiology and morphology after combined administration of kanamycin and furosemide. *Hearing Research*, 231(1–2), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2007.03.003>
- Vink, H. A., Ramekers, D., Foster, A. C., & Versnel, H. (2023). The efficacy of a TrkB monoclonal antibody agonist in preserving the auditory nerve in deafened guinea pigs. *Hearing Research*, 439, 108895. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2023.108895>
- Vink, H. A., Ramekers, D., Thomeer, H. G. X. M., & Versnel, H. (2022). Combined brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 treatment is preferred over either one separately in the preservation of the auditory nerve in deafened guinea pigs. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 15. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.935111>

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Acclimatisatie

Tussen week -2 en dag 0 vindt er acclimatisatie plaats. De cavia's zullen in die periode om de paar dagen gehanteerd worden, om te wennen aan het opgepakt worden. Zullen ze de studiehandelingen dan rustiger kunnen ondergaan.

Anesthesie en analgesie:

Op dag 0 krijgen ze voor de operatie de eerste dosis preventieve analgesie, waarna ze onder algehele anesthesie worden gebracht middels inhalatie anesthesie. Daarna krijgen ze lokale analgesie in het operatiegebied. Dan begint de operatie. 24 uur na de operatie krijgen de cavia's een tweede dosis analgesie. Frequentie van analgesie is maximaal 3x.

In overleg met een dierenarts en de betrokken IvD wordt de best beschikbare middelen voor anesthesie en analgesie gekozen en opgenomen in het werkprotocol. Algehele anesthesie vindt plaats alvorens het doofmaken en nog een keer voor de cochleaire implantatie. Frequentie van algehele anesthesie is 1x. De duur van de narcose bedraagt maximaal 2 uur.

Doofmaken

Onder algehele anesthesie worden de cavia's doofgemaakt. Hiertoe wordt subcutaan kanamycine toegediend en wordt eenzijdig de vena jugularis externa gecannuleerd, de vena saphena magna of de oorvene aangeprikt, zodat furosemide kan worden geïnjecteerd. Dit is een standaardmethode van doofmaken die effectief de cochleaire haarcellen vernietigt, zonder de haarcellen van het evenwichtsorgaan te beschadigen (Bremer et al., 2012; Versnel et al., 2007). Een variant van de doofmakende behandeling, waarbij hoogfrequent gehoorverlies ontstaat en laagfrequent restgehoor bewaard blijft, kan gerealiseerd worden met de helft van de dosis kanamycine en dezelfde dosis furosemide (Havenith et al., 2013). De procedure is verder hetzelfde. Frequentie

van doofmakende behandeling voor zowel complete doofheid als is 1x, duur is oneindig want de behandeling is irreversibel.

ABR metingen:

Voor implantatie worden onder anaesthesie naaldjes in de huid geplaatst. ABR drempels worden gemeten door stimuli

(korte tonen met frequenties variërend van 250 Hz tot 16 kHz) vanaf 100 dB steeds met stappen van -10 dB te verzwakken, totdat de ABR niet meer te zien is.

Middels ABR drempels wordt eerst het effect van de doofmakende behandeling beoordeeld. Frequentie van ABR metingen in wakkere toestand is maximaal 2x, onder narcose ook maximaal 2x. De duur van elke ABR meting is maximaal 60 minuten.

Cochleaire implantatie:

Het protocol voor cochleaire implantatie omvat de volgende stappen:

Retroauriculair en de bovenzijde van de schedel van de cavia worden kaal geschoren. Er wordt een incisie gemaakt vanaf de schedel tot achter het te implanteren oor. Er worden gaten in de schedel geboord om schroeven in te plaatsen.

De cavia wordt aan de beademing aangesloten en wordt vervolgens naar de meetopstelling geplaatst voor de eerste elektrofysiologische metingen. De hersenstampotentiaal (ABR)-meting wordt uitgevoerd. Er wordt een opening in de bulla aan de te implanteren zijde gemaakt en de cochlea wordt onder de microscoop in beeld gebracht. Er wordt een cochleostomie in de basale winding van de cochlea geboord. De op maat gemaakte cavia elektrode array wordt via de cochleostomie in de cochlea geplaatst. Daarna worden de elektrofysiologische ECochG en eCAP metingen gestart.

De operatie is eenmalig, en duurt maximaal 2 uur.

Hydrogel depot plaatsing:

In groepen B1-B5 en C1 wordt direct aansluitend aan het plaatsen van de elektrode array een hydrogel depot in de geïmplanteerde cochlea achtergelaten. Dit gebeurt nog steeds onder algehele anesthesie. Frequentie van hydrogel depot plaatsing is maximaal 1x, duur is 5 minuten.

ECochG en eCAP metingen:

Er worden herhaaldelijk ECochG en eCAP metingen gedaan. Bij de eerste ECochG meting wordt een goudenbal elektrode op het ronde venster geplaatst en wordt de elektrofysiologische respons van de haarcellen en gehoorzenuw gemeten. ECochG meet de samengestelde actiepotentiaal (CAP) en cochleaire microfonie (CM) na het aanbieden van verschillende geluidsstimuli. Stimuli bestaan uit korte tonen met frequenties variërend van 250 Hz tot 16 kHz. ECochG drempels worden gemeten door stimuli vanaf 100 dB steeds met stappen van -10 dB te verzwakken, totdat de ECochG niet meer te zien is. De frequentie van ECochG metingen onder narcose is maximaal 2x en in wakkere toestand maximaal 5x.

Voor eCAPs wordt elektrode-connector gekoppeld aan de processor van een humaan cochleair implantaat. Tijdens de operatie zijn de cavia's onder narcose. In totaal zullen de cavia's nog 3 keer in wakkere toestand dezelfde metingen ondergaan, in sessies van 60-90 minuten per keer. Uit ervaring weten we dat de dieren hier rustig bij blijven en dus niet steeds opnieuw onder narcose hoeven. In de tussentijd zullen ze wel gehanteerd worden, om ze alle procedures verder zo rustig mogelijk kunnen ondergaan.

Euthanasie:

De cavia's worden geëuthanaseerd middels overdosis anesthesie onder sedatie. Er wordt m.b.t. keuze voor medicijnen ten alle tijden overlegd met de betrokken dierenarts en Instantie voor Dierenwelzijn.

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

Op basis van de ervaring met cavia studies binnen onze onderzoeksgroep (AVD11500201550 en AVD1150020174315; Ramekers et al., 2022; Vink et al., 2022) en gegevens uit de literatuur hebben we een inschatting gemaakt van de verwachte groepsgroottes. Voorafgaand aan elk experiment vindt er op bij het opstellen van het werkprotocol afstemming plaats met de betrokken IvD en een statisticus voor de exacte aantallen cavia's.

Fase 0: Training

Het protocol van de cochleaire implantatie operatie wordt getraind op restmateriaal van cavia's. Daarna wordt er getraind op levende cavia's. Hier zijn naar schatting maximaal 10 cavia's voor nodig.

Fase 1: Acute experimenten

Naar inschatting op basis van voorgaande studies (AVD11500201550 en AVD1150020174315; Ramekers et al., 2022; Vink et al., 2022) zullen er voor fase 1, de acute experimenten, maximaal 20 cavia's nodig zijn. In de acute experimenten wordt in twee groepen onderzocht wat het acute traumatische effect van cochleaire implantatie in 5 normaalhoerende cavia's en in 5 cavia's met hoogfrequent gehoorverlies, op de elektrofysiologische potentialen van de cochlea, gemeten met elektrocochleografie (ECoChG) en electrically evoked compound action potentials (eCAP) is.

Fase 2: Chronische experimenten

Met behulp van een powercalculatie (independent t-test; power van ~0.85; effect grootte van 1) op basis van het beschikbare vergelijkingsmateriaal (Bas et al., 2016; Vink et al., 2022), is berekend dat er voor fase 2 15 cavia's per groep, dus maximaal 135 cavia's nodig zijn (9 groepen van 15 cavia's). In 5 groepen wordt geëxperimenteerd met hydrogel en 4 soorten medicijnen (BDNF, NT-3, BDNF+NT-3 cocktail en dexamethason) en fysiologisch zout. In de overige 4 groepen wordt met 2 modellen drug-eluting-electrode (DEE) model A en B met dexamethason en fysiologisch zout geëxperimenteerd.

Fase 3: Chronische experimenten

Indien fase 3 plaatsvindt, zullen hier naar berekening 3 groepen van 15 cavia's, dus in totaal maximaal 45 cavia's nodig zijn.. In totaal komt dit neer op 45 cavia's voor fase 3. In één groep wordt met cavia's met hoogfrequent gehoorverlies en hydrogel met dexamethason geëxperimenteerd. In twee groepen wordt met met hetzelfde type DEE geëxperimenteerd (A of B) met dexamethason of neurotrofe factoren.

Extra cavia's ivm mogelijke uitval

Tot slot moeten we rekening houden met cavia's al eerder humane eindpunten bereiken, waardoor ze uitvallen (zie humane eindpunten). Gezien de complexiteit van deze studie wordt ingeschat dat ongeveer maximaal 15% mogelijk zal uitvallen. Om alsnog voldoende cavia's te hebben, zijn er nog 35 extra nodig.

Totaal

Dit komt neer op $10+20+135+45=210$ cavia's + 35 = totaal 245 cavia's

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, levensstadia, geschatte aantallen per levensstadium, geslacht, genetische wijzigingen en, indien van belang voor het behalen van de doelstelling, de te gebruiken stam.

Onderbouwing aantal proefdieren

Volgnr.	Diersoort	Herkomst	Levensstadium	Aantal	Geslacht	Genetisch gewijzigd	Stam
Click or tap here to enter text.	Cavia	Erkende leverancier EU	+ - 4 weken	245	Vrouwelijk	Nee	Dunkin-Hartley

Onderbouw de bovengenoemde keuzes.

Diersoort	Cavia
-----------	-------

In gehooronderzoek wordt de cavia veel gebruikt, wat vergelijking van onze toekomstige resultaten met de literatuur mogelijk maakt. Daarbij is het frequentiebereik van de cochlea van de cavia, vergelijkbaar aan dat van de mens, relatief laag. Dit verhoogt de transleerbaarheid van resultaten van het onderzoek. Tot slot heeft onze onderzoeksgroep veel ervaring met operaties en elektrofysiologische metingen bij cavia's.

Herkomst Erkende leverancier EU

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

Aantal Totaal 245 cavia's, opgeplitst in 4 fasen (zie onderstaande tabellen):

Groep	Type experiment	Conditie gehoor	Elektrode array	Interventie	N=
T	Trainingsfase	Normaal	Normaal	Geen	10

Tabel 2. Overzicht experimentele groepen fase 0

Groep	Type experiment	Conditie gehoor	Elektrode array	Interventie	N=
A1	Acuut	Normaal	Normaal	Geen	10
A2	Acuut	Hoog frequent gehoorverlies	Normaal	Geen	10
Extra cavia's in verband met kans op uitval					3
Totaal					20

Tabel 3. Overzicht experimentele groepen fase 1

Groep	Type experiment	Conditie gehoor	Elektrode array	Medicatie	N=
B1	Chronisch	Normaal horend	Normaal	Hydrogel fysiologisch zout	15
B2	Chronisch	Doof	Normaal	Hydrogel: BDNF	15
B3	Chronisch	Doof	Normaal	Hydrogel: NT-3	15
B4	Chronisch	Doof	Normaal	Hydrogel: Cocktail	15
B5	Chronisch	Normaal horend	Normaal	Hydrogel: Dexamethason	15
B6	Chronisch	Normaal horend	DEE model A	DEE: fysiologisch zout	15
B7	Chronisch	Normaal horend	DEE model A	DEE: dexamethason	15
B8	Chronisch	Normaal horend	DEE model B	DEE: fysiologisch zout	15
B9	Chronisch	Normaal horend	DEE model B	DEE: dexamethason	15
Extra cavia's in verband met kans op uitval					22
Totaal					135

Tabel 4. Overzicht experimentele groepen fase 2

Groep	Type experiment	Conditie gehoor	Elektrode array	Medicatie	N=
C1	Chronisch	Hoogfrequent gehoorverlies	Normaal	Hydrogel: dexamethason	15

	C2	Chronisch	Hoogfrequent gehoorverlies	Uit fase II gebleken beste model DEE (A of B)	DEE: Dexamethason	15
	C3	Chronisch	Doof	Uit fase II gebleken beste model DEE (A of B)	DEE: Neurotrofe factoren met beste effect in fase II	15
	Extra cavia's in verband met kans op uitval					10
	Totaal					45
Tabel 5. Overzicht experimentele groepen fase 3						
Geslacht	We kiezen voor vrouwelijke cavia's omdat deze rustiger zijn dan mannetjes. Wanneer de cavia's geïmplantat zijn bestaat de mogelijkheid dat mannetjes aan de externe delen van elkaars implantaten zitten. Daarnaast gaan mannelijke cavia's mogelijk vechten, waardoor ze mogelijk toch individueel gehuisvest zouden moeten worden. Door voor alleen vrouwelijke cavia's te kiezen kunnen we zeker zijn dat de cavia's gezamenlijk op een rustige manier gehuisvest kunnen worden.					
Genetisch gewijzigd	De cavia's zijn niet genetisch gemodificeerd en immuuncompetent.					
Stam	Dunkin Hartley					

C. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Já

Nee > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

Click or tap here to enter text.

D. Pijn en welzijnsaantasting

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Click or tap here to enter text.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

De cavia's krijgen:

- Preventieve antibiotische profylaxe voor de operatie.
- Preventieve analgesie voor de operatie, gevolgd door een tweede dosis 24 uur de operatie.
- Algehele anesthesie gedurende de operaties.
- Lokale analgesie in het operatiegebied, gegeven na inductie van algehele anesthesie.
- 24u na de operatie krijgen de cavia's een tweede dosis analgesie.
- Oogzalf applicatie tijdens de operatie om uitdroging van de ogen te voorkomen.
- Postoperatieve antibiotica om infectie na operatie te voorkomen.

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

- 1) Gehoorverlies (bewust geïnduceerd);
- 2) Evenwichtsproblemen na cochleaire implantatie;
- 3) Postoperatieve infectie

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Tav 1: gedeeltelijk tot bijna volledig gehoorverlies wordt geïnduceerd om de situatie in de dove CI-gebruiker zo goed mogelijk na te bootsen;
Tav 2: obstructie van het cochleair aquaduct kan endolymfatische hydrofysie veroorzaken (~1-2% incidentie);
Tav 3: risico op infectie tijdens (of vlak na) de operatie (~5% incidentie);
Bovengenoemde percentages zijn een schatting op basis van ervaring tijdens voorgaand cavia onderzoek: 10-15% (AVD11500201550 en AVD1150020174315; Ramekers et al., 2022; Vink et al., 2022).

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

Tav 1: N.v.t.;
Tav 2: in het zeldzame geval dat dit gebeurt, is euthanasie de enige manier om het lijden weg te nemen;
Tav 3: steriel opereren en er wordt standaard antibiotica na de operatie gegeven om infectie te voorkomen.

E. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag F.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Humane eindpunten

- Onvoldoende effect van ototoxische behandeling (ABR meting); Let wel: in geval van onvolledig voor geheel doof (over alle frequenties) maar wel hoogfrequent verlies, dan kan het dier gebruikt worden voor experimenten waarbij hoogfrequent verlies met laagfrequent restgehoor gewenst is (in fase 3).
- Progressief gewichtsverlies na doofmaken (>20% gewichtsverlies t.o.v begin gewicht, na start van experiment);
- Niet op antibiotica reagerende post-operatieve infectie rond connector/tandarstcement op schedel na cochleaire implantatie;
- Zichtbare evenwichtsproblemen na cochleaire implantatie langer dan 1 dag;
- De cavia's zich niet verzorgen (verwarde vacht);
- Bij lethargie langer dan 1 dag;
- Niet-succesvolle cochleaire implantatie

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

Een schatting op basis van voorgaand onderzoek: 10-15% (AVD11500201550 en AVD1150020174315; Ramekers et al., 2022; Vink et al., 2022).

F. Classificatie van ongerief

Benoem de experiment gebonden factoren die bijdragen aan het ongerief en geef voor elk van deze factoren aan hoe het ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig'. Geef per diersoort en behandelgroep het cumulatieve ongerief aan in percentages van het totale aantal dieren.

Trainingsfase op levende dieren (fase 0) en acute experiment (fase 1): groep T, A1 en A2

Doofmakende behandeling (alleen groep A2) – matig

Operatie inclusief metingen: terminaal

De cavia's worden onder algehele anesthesie gebracht, waarna het experiment zal starten. De cavia's waar op getraind wordt in fase 0 (groep T) en de cavia's die in het acute experiment blijven (groep A1), ontwaken niet meer uit de narcose. Derhalve wordt het cumulatieve ongerief van trainingsgroep T en groep A1 van het acute experiment geclassificeerd als **terminaal** (groep T omvat ~4% van de cavia's. Groep A2 omvat, inclusief extra dieren in verband met mogelijk uitval, ~5% van de cavia's).

Groep A2 wordt twee weken voor start van het experiment doof gemaakt. Derhalve wordt het cumulatieve ongerief van groep A2 van het acute experiment geclassificeerd als **matig** (~4% van de cavia's).

Chronische experimenten (fase 2 en 3): groepen B1-B9, C1-C3

ABRs - licht

Doofmakende behandeling (alleen groepen B2, B3, B4 en C3) – matig

Operatie: cochleostomie en cochleaire implantatie – matig
 Bijkomen van narcose - matig
 Herhaaldelijk ECoChG metingen – licht
 Herhaaldelijk eCAP metingen – licht

Door de operatie en de narcose die de cavia's ondergaan, wordt het cumulatieve ongerief geclassificeerd als **matig** (fase 2 en 3 omvatten, inclusief extra dieren in verband met mogelijk uitval ~87% van de cavia's)

G. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging	<p>Vervanging is niet mogelijk aangezien het gehele perifere gehoororgaan inclusief verbinding met de hersenstam (exclusief de haarcellen) via de gehoorzenuw intact en functioneel moet zijn om ECoChG en eCAP metingen te kunnen doen. Natuurlijke degeneratie van dit gehele systeem na specifieke haarcel schade kan niet <i>ex vivo</i> bestudeerd worden.</p> <p>Experimenten met hydrogel zijn in het verleden in schapen uitgevoerd. De applicatie was daarbij rondom de wervelkolom. In dat diermodel bleek het middel veilig te zijn. Aangezien de hydrogel applicatie in het slakkenhuis een nieuwe toepassing is, is een cavia model het enige bruikbare model om deze nieuwe toepassing van hydrogel in te onderzoeken. Het is nog niet mogelijk om een phase-I klinische studie op te starten.</p> <p>Ook de <i>drug-eluting electrode array</i> kan alleen in een intacte cochlea in een intact auditief systeem worden getest.</p>
Vermindering	<ol style="list-style-type: none"> 1) De eerste schattig van het aantal cavia's is gedaan op basis van een berekening (powercalculatie). Bij het opmaken van het werkprotocol, wordt in overleg met een statisticus het precieze aantal benodigde cavia's berekend. 2) We beginnen met een trainingsfase. Hierdoor zijn de (nieuwe) onderzoekers, voor de start van dit experiment bekwaam om cavia's te implanteren. Tijdens die trainingsfase zullen we chirurgische technieken trainen op restmateriaal van cavia's en daarna op een aantal levende cavia's. Daardoor zullen er tijdens het experiment minder extra cavia's nodig wegens uitval door mislukte operatie. 3) Er wordt gebruik gemaakt van een interne controlegroep, waardoor er geen aparte controlecavia's nodig zijn. Dit wordt als volgt gedaan: eenzijdig wordt een slakkenhuis geïmplanteerd en het andere niet-geïmplanteerde slakkenhuis dient als controle.
Verfijning	<ol style="list-style-type: none"> 1) Voor start van de operatie krijgen de cavia's en eerste dosis pijnstilling. Alle chirurgische ingrepen worden onder narcose gedaan; na de operatie wordt pijnstilling gegeven. 2) Lokale pijnstilling in het gebied achter het oor van de cavia (dit is het operatiegebied); 3) Oogzalf tijdens de operatie om uitdroging van de ogen te voorkomen (cavia's houden tijdens de narcose hun ogen open). 4) Gedurende operaties en het wakker worden zullen de cavia's warm gehouden worden op een warmtemat om ongewenste afkoeling te voorkomen. 5) 2 uur na start van de operatie wordt ter voorkomen van uitdroging extra vocht toegediend. 6) Voor de herhaaldelijke haarcel- en gehoorzenuwmetingen, is narcose niet nodig, omdat uit ruime ervaring is gebleken dat deze metingen niet tot uitingen van schrik/angst/pijn leiden bij de cavia's. 7) Er is gekozen voor vrouwelijke cavia's zodat ze te allen tijde gezamenlijk gehuisvest kunnen worden. 8) Een acclimatisatieperiode van twee weken voor de start van het experiment, waarin de dieren kunnen wennen aan hun omgeving en aan het opgepakt worden door mensen.

- 9) Antibiotica-kuur direct na de operatie, om te voorkomen dat zij na de operatie een infectie krijgen door het plaatsen van een implantaat.
10) Verrijking van hun leefruimte/kooien met attributen zoals plastic buizen
11) Dove en normaal horende cavia's worden indien mogelijk samen gehuisvest.

Zijn er nadelige milieueffecten te verwachten?

Nee

Ja > Benoem de te verwachten milieueffecten en geef aan welke maatregelen zijn genomen om deze tot een minimum te beperken.

H. Hergebruik

Worden er dieren ingezet die eerder in een andere dierproef zijn gebruikt?

Nee > ga verder met vraag I.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Click or tap here to enter text.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico op) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Click or tap here to enter text.

I. Herhaling

Geef voor wettelijk vereist onderzoek aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing, geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

N.v.t.

J. Plaats waar de dierproef wordt uitgevoerd

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Click or tap here to enter text.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Click or tap here to enter text.

3 Einde Experiment

K. Bestemming van de dieren bij einde experiment

Worden de dieren gedood?

Nee > Beschrijf de bestemming van de dieren.

Click or tap here to enter text.

Ja > Geef aan waarom de dieren worden gedood.

De cavia's worden gedood aangezien er histologische beelden van de cochlea van de cavia's verkregen moeten worden. Dit kan alleen middels post-mortem onderzoek.

Indien dieren worden gedood, wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van Richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de dodingsmethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Click or tap here to enter text.

Ja > Betreft het een dodingsmethode die alleen onder specifieke voorwaarden mag worden toegepast?

Nee> Beschrijf de dodingsmethode

De cavia's zullen worden geëuthanaseerd met een overdosis anesthesie, met voorafgaande sedatie.

Ja > Beschrijf de dodingsmethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Click or tap here to enter text.

Indien dieren worden gedood, maar niet in het kader van de proef, geef aan of herplaatsing is overwogen en waarom hiervan is afgezien.

Click or tap here to enter text.

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer : AVD11500202418469
2. Titel van het project : Bescherming van de cochlea bij cochleaire implantatie
3. Titel van de NTS : Bescherming van cochleaire structuren bij cochleaire implantatie

4. Type aanvraag:

- nieuwe aanvraag projectvergunning
 wijziging van vergunning met nummer :

5. Contactgegevens DEC

Naam DEC : DEC Utrecht
Telefoonnummer contactpersoon : 06-31118069
Emailadres contactpersoon : dec-utrecht@umcutrecht.nl

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

- ontvangen door DEC: 01-11-2024
 aanvraag compleet:
 in vergadering besproken: 06-11-2024
 anderszins behandeld:
 termijnonderbreking(en) van / tot: 13-11-2024 / 26-11-2024
 besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
 aanpassing aanvraag:
 advies aan CCD: 10-12-2024

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

8. Eventueel horen van aanvrager

- Datum: 06-11-2024
- Plaats: Utrecht
- Aantal aanwezige DEC-leden: 6
- Aanwezige (namens) aanvrager: Verantwoordelijk onderzoeker + collega
Gestelde vragen en verstrekte antwoorden: De DEC heeft de onderzoekers o.a. gehoord over de financiering en haalbaarheid van het project, de aangepaste implantaten voor cavia's en de werking, de kinetiek van de toe te passen gel in combinatie met de genoemde middelen, en het ongerief. Hieruit zijn onderstaande vragen voortgekomen die schriftelijk aan de onderzoeker worden voorgelegd.
- Hieruit zijn onderstaande vragen, zoals vermeld bij punt A9, voortgekomen, die schriftelijk aan de onderzoekers werden voorgelegd.
- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag.

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum vragen: 13-11-2024
- Datum antwoord: 26-11-2024
- Strekking gestelde vragen en antwoorden:

Projectvoorstel

3.1 Achtergrond

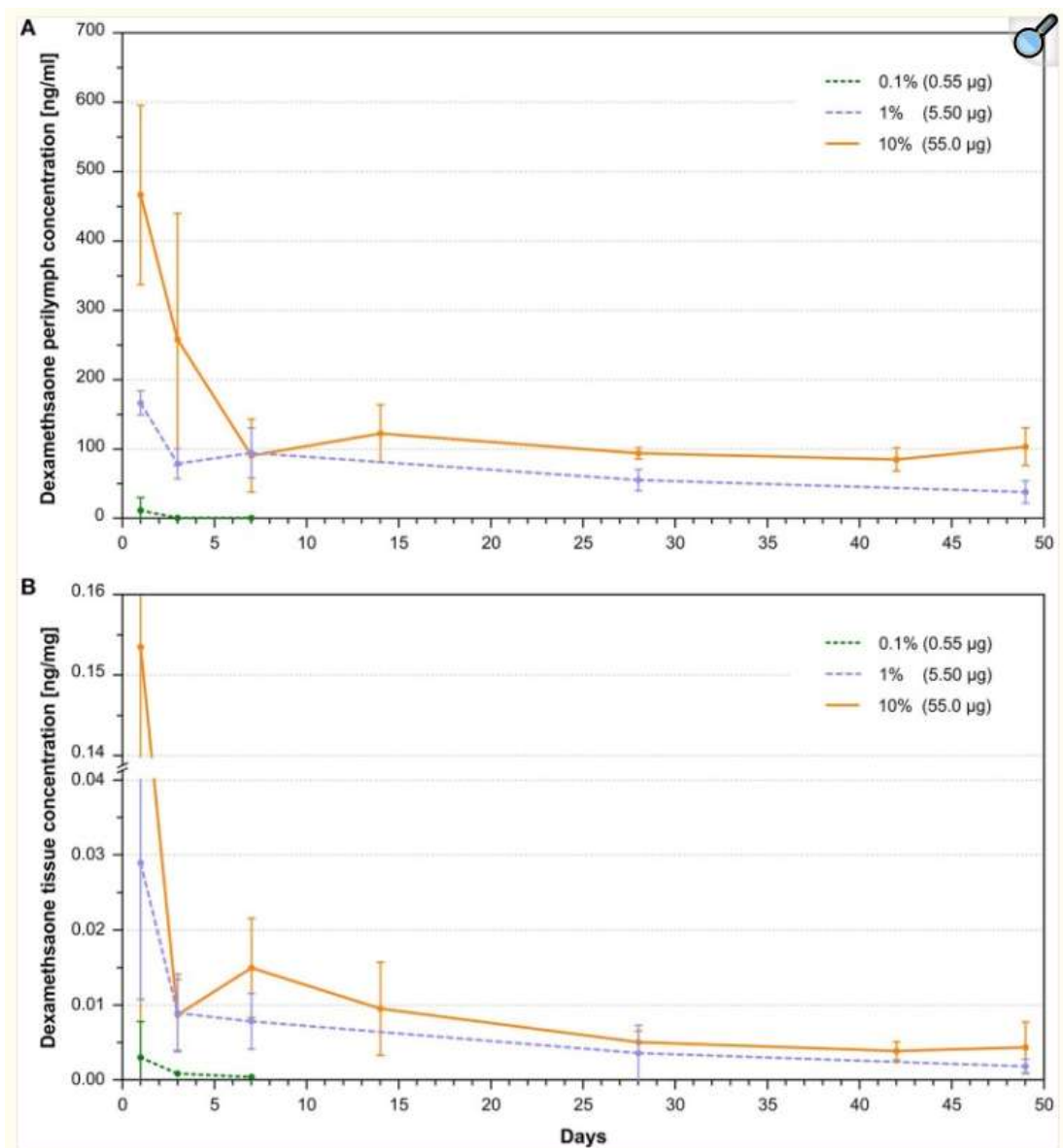
U heeft mondeling aangegeven al een klinische trial te doen en nu parallel een vergelijkbare studie met dierproeven te willen uitvoeren. Kunt u dit toelichten en de noodzaak van dierproeven daarbij onderbouwen?

Dit berust op een misverstand. De klinische trial die momenteel loopt vergelijkt uitkomsten van het restgehoor tussen twee chirurgische technieken om het cochleair implantaat te plaatsen en twee modellen implantaten, dus is van andere aard dan de omschreven dierproef (Jwair et al., 2021). Het doel van de klinische trial is om de cochleaire implantatie operatie zo minimaal invasief mogelijk te maken, om het restgehoor te sparen. Dit kwam uit het overleg met de DEC op 6 november niet duidelijk naar voren. De dierproef is gericht op het ontwikkelen van toedieningsmethoden om met medicatie het restgehoor rondom cochleaire implantatie te kunnen beschermen. De overeenkomst tussen klinische trial en voorgestelde dierproeven is gebruik van dezelfde elektrofysiologische meetmethoden (elektrocochleografie, impedantiemetingen), wat aanleiding was tot het noemen van de klinische trial.

De meeste afgifte van de hydrogel lijkt in de eerste 24 uur te zijn volgens figuur 2. De DEC mist nog een kader waarin de gel effectief is. Kunt u een overzicht van de afgiftekinetiek in het slakkenhuis in tijd opnemen en toelichten? Zou op een bepaald punt een herbehandeling noodzakelijk zijn of is het herstel dan voldoende?

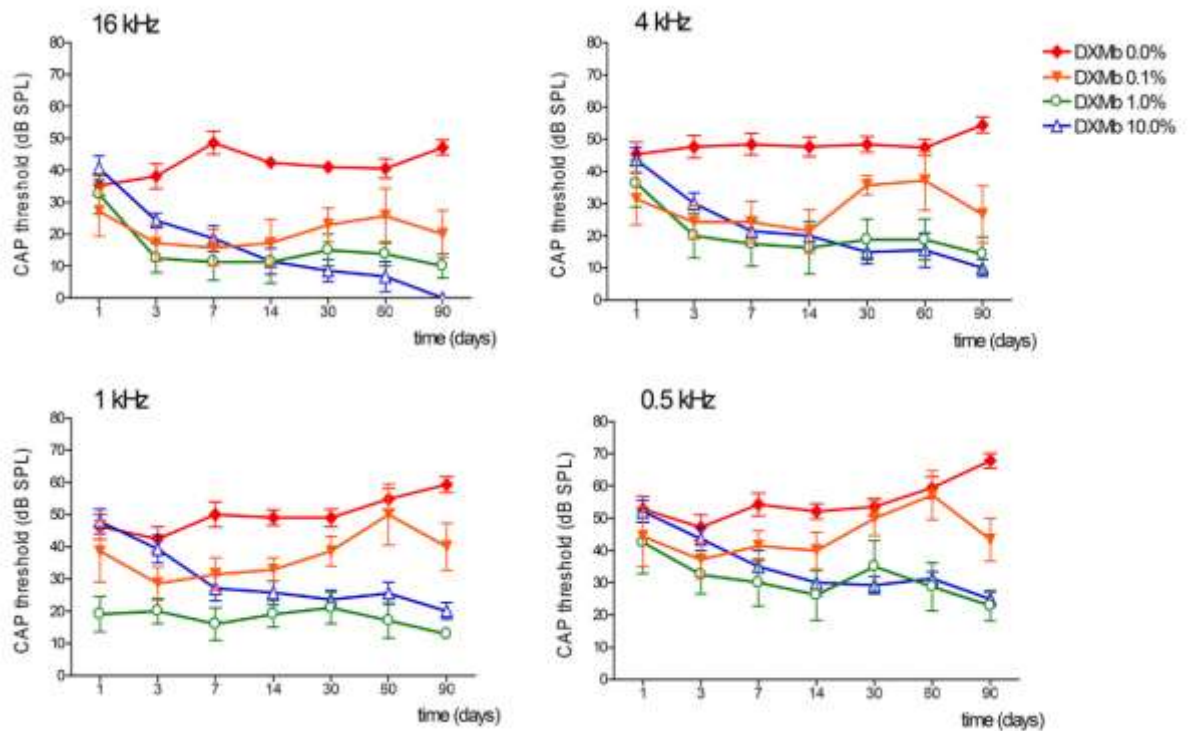
Dat de hydrogel geschikt is als carrier voor medicatie is duidelijk te zien in figuur 2. Uit gegevens van het bedrijf dat de hydrogel produceert, weten we dat middelen bestaande uit kleine moleculen vanuit de hydrogel kunnen worden afgegeven. Dexamethason heeft een dergelijke moleculaire opbouw, dat het ook vanuit deze hydrogel afgegeven moet kunnen worden.

Het klopt inderdaad dat figuur 2 laat zien dat 90% van de afgifte vanuit de hydrogel geschiedt in de eerste 24 uur. Daarna treedt er nog geen plateau fase op, maar volgt er in de volgende 72 uur nog ~10% afgifte. Voor dexamethason geldt dat die 10% afgifte wel degelijk nog een beschermend effect kan hebben op de haarcellen, zolang de startdosering van dexamethason maar hoog genoeg is. Dit argument is gebaseerd op de volgende data uit de literatuur. Liebau et al. (2020) onderzocht namelijk de afgifte van dexamethason vanuit een klein stukje siliconen van 1 mm lang. Deze studie onderzocht 3 doseringen dexamethason, 0.55, 5.5, en 55 µg dexamethason en de concentratie in de periflymf (vloeistof in de cochlea) en het weefsel van de cochlea zelf (postmortem). De figuur A en B hieronder laat duidelijk zien dat er bij een dosering van 55 µg dexamethason, na een snelle eerste concentratie daling, een stabiele concentratie ontstaat in zowel de perilymf (A) als cochleair weefsel (B). Dit geldt ook voor een dosering dexamethason van 5.5 µg (Liebau et al., 2020).



Figuur A en B: De concentratie dexamethason in de perilymfe (A) en cochleaire weefsels (B), na toediening van drie verschillende concentraties dexamethason, in een tijdspanne van 50 dagen. Voor alle drie de concentraties geldt dat er direct na toediening een 'burst' afgifte optreedt, waarbij de concentratie in de eerste 3 dagen snel afneemt. Na toediening van een concentratie van 0.1% (0.55 µg) dexamethason blijft er na deze burst bijna geen dexamethason over. Voor de concentraties 1.0% (5.5 µg) en 10% (55.0 µg) geldt dat er wel degelijk een redelijke concentratie overblijft.

Bas et al. (2016) onderzocht het beschermend effect van drie concentraties dexamethason 0.6, 6 en 60 µg op de cochleaire structuren van de cavia na cochleaire implantatie. Zij vonden dat een dosis van zowel 6 als 60 µg beiden een beschermend effect gaven op de cochleaire structuren en de gehoordrempels (welke ook tot de elektrofysiologische metingen die in ons onderzoek worden gebruikt behoren) op 16, 4, 1, 0.5 kHz, dus over de gehele cochlea, verlaagden, zie figuur C hieronder.



Figuur D: Elektrofysiologische compound action potential (CAP) drempels van cavia's in een tijdspanne van 90 dagen. Gemeten bij stimuli op vier verschillende frequenties (16, 4, 1, 0.5 kHz) na toediening van vier verschillende concentraties dexamethason (0.0%, 0.1%: 0.6 μ g, 1.0%: 6 μ g, 10%: 60 μ g). De rode lijn (0% dexamethason) laat duidelijk de hoogte drempels zien, gevolgd door een concentratie van 0.1% dexamethason. Concentraties dexamethason vanaf 1.0% geven tot aan 90 dagen na toediening een afname van de CAP drempels op 16, 4, 1, 0.5 kHz, dus over de gehele cochlea.

Op basis van bovenstaande voorbeelden uit de literatuur, geloven wij dat er bij een voldoende hoge start dosering dexamethason (ongeveer 55-60 μ g) in de hydrogel, er na ongeveer 90% afgifte in de eerste 24 uur nog een werkzame 10% van de dosering (minimaal 5.5-6 μ g) over blijft. Dit zou voor een stabiele concentratie dexamethason in de cochlea van de cavia's moeten zorgen, die ook nog eens bescherming van cochleaire structuren zou kunnen geven (Liebau et al., 2020). Voor neurotrofe factoren is een langdurige afgifte van minder groot belang, aangezien het effect blijft doorwerken nadat de behandeling gestopt is (Ramekers et al., 2015). De implantaten die normaliter humaan gebruikt worden, zijn op maat gemaakt voor de cavia's. Kunt u nader onderbouwen waarom u voor cavia's kiest?

Cavia's zijn een zeer geschikt diermodel voor gehooronderzoek. Het frequentiebereik is redelijk goed vergelijkbaar aan dat van de mens, met name wat betreft gevoeligheid voor lage frequenties (< 1000 Hz, waar bijvoorbeeld rat en muis geen gehoor hebben). Een cavia model wordt in de literatuur ook veelvuldig gebruikt in onderzoek naar cochleair implanteren en het toedienen van medicijnen aan de cochlea (Parys et al., 2022; Shaul et al., 2019). Daardoor is er veel kennis over de cochlea van de cavia, ook met betrekking tot het toedienen van dexamethason en neurotrofe factoren. Dit maakt dat onze resultaten goed vergelijkbaar zullen zijn met deze literatuur. Tot slot heeft onze onderzoeksgroep ruim 20 jaar ervaring met cavia modellen voor onderzoek naar cochleair implanteren.

Heeft het verkleinen van de implantaten effect op de afgifte en de hoeveelheid medicatie? Is dit verkleinen van invloed op de transleerbaarheid naar de humane situatie?

Het verkleinen bestaat uit verkorten van de implantaten, omdat de inbrengdiepte bij de cavia korter is, dan bij de mens. De diameter is vergelijkbaar aan het humane implantaat. Daardoor is er per millimeter van de lengte van de elektrode array een vergelijkbare afgifte van medicijnen. Het antwoord op de vraag is dus: Nee, het verkleinen van de implantaten heeft geen effect op de afgifte en de hoeveelheid medicatie.

3.2 Doel: De volledige uitvoering van dit project is mede afhankelijk van nog te verkrijgen aanvullende subsidie of financiering en materialen. Kunt u concreter aangeven hoe het project gefinancierd zal worden, welke fases op grond van welke financiering uitgevoerd kunnen worden, en welke prioriteiten er gesteld worden (go-no go), in verband met de haalbaarheid?

Dit is besproken met het hoofd van onze afdeling KNO-heelkunde en Heelkunde van het Hoofd-Hals gebied en deze heeft expliciet toegezegd, gezien de actualiteit van dit onderzoek en de noodzaak om nieuwe toedieningsmethoden voor medicatie aan de cochlea te ontwikkelen, garant te willen staan als er geen subsidie van elders verkregen wordt. Daarnaast heeft hij het verkrijgen van een subsidie besproken met een persoon van de CI-fabrikant (waar in april 2024 ook een subsidie van ontvangen is en de lopende klinische trial uit gefinancierd wordt). Mogelijk volgt er in het komende jaar een nieuwe subsidie vanuit de CI-fabrikant. Kortom, dit project zal hoe dan ook zijn doorgang kunnen vinden.

3.3 Belang: Klopt het dat er al getraind is met de chirurgische ingreep t.b.v. de cochleaire implantaten?

Ja, dat klopt. Zoals beschreven in de PP en de DAP worden er uitsluitend onderzoekers (huidige en toekomstige PhD-studenten en research analisten) getraind in de chirurgische ingreep t.b.v. de cochleaire implantaten.

3.3 Belang: Is het trainen van deze complexe chirurgie door chirurgen / KNO-artsen in opleiding ten behoeve van hun medische professie ook onderdeel van dit project? Zo ja, ziet u deze artsen in opleiding ook als belanghebbenden?

Er zullen geen huidige KNO-artsen in opleiding meewerken aan dit project, waardoor zij buiten de belanghebbenden vallen. KNO-artsen in opleiding trainen hun chirurgische vaardigheden op humane kadavers.

3.4 Strategie: De vermelding van het selectiemoment na het testen van het optimale type implantaat tussen fase 2 en fase 3 ontbreekt in de tekst (figuur 5). Wilt u dit duidelijk omschrijven?

Het stroomdiagram (figuur 5 van PP) is aangepast.

Bijlage 1

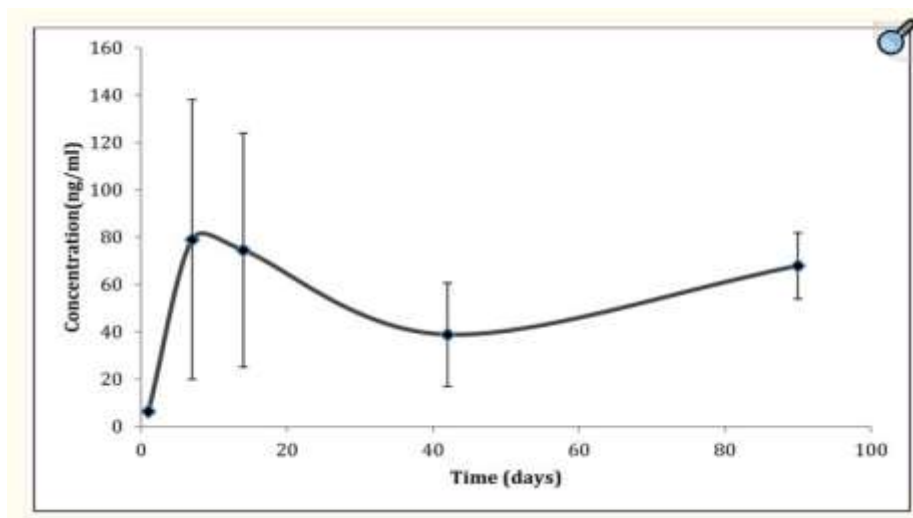
A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: Wilt u het gebruik beargumenteren van het corticosteroïde dexamethason, dat snel verdwijnt uit het slakkenhuis? Zou het vergelijkbare fluticason met een betere kinetiek misschien een betere keuze zijn?

In vergelijking met de hoeveelheid beschikbare literatuur over het gebruik van dexamethason (onder meer in het kader van cochleaire implantatie) bij zowel cavia's als de mens, is er over de kinetiek van fluticason in het slakkenhuis van de cavia en of de mens heel weinig literatuur

beschikbaar. Het doel van ons onderzoek is om een nieuwe toedieningsmethode voor dexamethason en neurotrofe factoren aan de cochlea te vinden. Het doel is niet om te onderzoeken wat het beste corticosteroid is. Daarom is het belangrijk om een corticosteroid te kiezen, waarbij er ruime mogelijkheden zijn om onze nieuwe toedieningsmethode te vergelijken aan andere methoden uit de literatuur (Creber et al., 2018; Parys et al., 2022; Shaul et al., 2019).

Na uitvoerig literatuuronderzoek, zijn er twee artikelen gevonden over intracochleaire toediening van fluticason (Pierstorff et al., 2018, 2019). Beide onderzoeken zijn niet gericht op het onderzoeken van het beschermend effect van fluticason op de cochlea in de context van cochleaire implantatie.

Het onderzoek van (Pierstorff et al., 2018), waarin ze partikels met een fluticason coating (dosis 10 µg) via het ronde venster in de cochlea plaatsten (zonder cochleair implantaat), liet zien dat de concentratie fluticason in de perilymfe gedurende de eerste 7 dagen langzaam toeneemt (zie figuur E). In tegenstelling tot de concentratie dexamethason in de periflymfe volgens (Liebau et al., 2020), wordt de maximale concentratie fluticason pas later (na een dag of 10) bereikt. Ons doel is om direct na cochleaire implantatie de ontstekingsreactie te remmen, dus is het juist wenselijk om sneller na toediening van het middel de maximale concentratie te bereiken. Het doel van het toedienen van corticosteroiden is namelijk om de directe schade aan de haarcellen, veroorzaakt door cochleaire implantatie, te beperken.



Figuur E: De concentratie van fluticason in de perilymfe, in een tijdspanne van 90 dagen. De concentratie neemt in de eerste 10 dagen langzaam toe, waarna de maximale concentratie rond dag 10 bereikt wordt. Daarna neemt de concentratie langzaam af. Vanaf dag 41 neemt de concentratie weer iets toe.

Tot slot is dexamethason het corticosteroid dat veelvuldig bij andere gehoorandoeningen bij mensen wordt gegeven, effectief is en veilig is gebleken. Dit maakt dat er, bij goede resultaten van dierexperimenteel onderzoek met dexamethason, mogelijk op korte termijn een klinische trial zou kunnen volgen. Er is geen literatuur beschikbaar die het gebruik van fluticason voor gehoorandoeningen bij de mens beschrijft. Kortom, dexamethason blijft het voorkeurscorticosteroid voor onze studie.

F. Classificatie van ongerief: U geeft in fase 1 (acute fase) aan dat het ongerief 'terminaal' is. Hier is echter een experimentele handeling aan vooraf gegaan; (een deel van) de dieren

worden doof gemaakt en blijven doof gedurende een aantal weken, daarna wordt het dier onder narcose gebracht. Volgens de DEC is er dan geen sprake van terminaal ongerief. Wilt u het ongerief heroverwegen?

Dit is aangepast.

De ongeriefinschatting van het doof maken van de dieren is nu gesteld op 'matig'. Zou het ongerief 'ernstig' kunnen zijn door angst door het doof wakker worden of eventuele evenwichtsstoornissen?

Uit onze ruime ervaring met dierproeven met cavia's (Jwair et al., 2023; AVD11500201550 Ramekers et al., 2012, 2015, 2022; AVD1150020174315 Vink et al., 2022, 2023) weten we dat er geen opmerkelijke stress na het doofmaken geobserveerd wordt door zowel de diervverzorgers als onderzoekers.

Kunt u per diersoort en behandelgroep het cumulatieve ongerief aangeven in percentages van het totale aantal dieren?

Dit is aangepast.

Niet Technische Samenvatting

U geeft aan al 45 jaar onderzoek te doen. Mogelijk kunt u overwegen dit zinsdeel te wijzigen in 'ruime ervaring waarbij al veel bereikt is'.

Dit berust op een misverstand. In de NTS staat de volgende zin: "In de afgelopen 45 jaar hebben cochleaire implantaten (CI's) aanzienlijke vooruitgang geboekt, waardoor het perspectief voor mensen met ernstig tot zeer ernstig gehoorverlies in positieve zin sterk is veranderd." De zin is in de NTS scherper geformuleerd, aangezien bovenstaande formulering voor verwarring heeft kunnen zorgen.

U heeft de nadelige effecten benoemd maar kunt u inhoudelijk beschrijven wat de dieren ervaren en hoe lang de experimenten duren? Voor het algemene publiek zeggen 'terminaal, licht, matig en ernstig ongerief' niet zoveel.

De NTS is voor algemeen publiek. Kunt u moeilijke termen zoals histologie en 'opgewerkt worden vervangen? In vak 24, over de nadelige effecten voor het dier, moet veel duidelijker en uitgebreider omschreven worden wat de dieren aan negatiefs meemaken.

De NTS is versimpeld en verder uitgebreid.

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

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

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. Bij slechthorende of dove mensen met teveel of volledig verlies van haarcellen in de cochlea is een gehoorapparaat niet afdoende en wordt operatief een cochleair implantaat (CI) geplaatst. Daarna vermindert echter bij de meeste patiënten nog het weinig overgebleven, maar essentiële, akoestisch restgehoor. Dat wordt veroorzaakt door degeneratie van haarcellen en van neuronen in het spiraal ganglion met een bijkomend functieverlies in de gehoorzenuw. Voor het optimaal functioneren van het CI (elektrisch gehoor) is het essentieel dat het resterend akoestisch gehoor zoveel mogelijk blijft behouden. In dit project wordt onderzocht of methoden waarmee medicijnen (neurotrofe factoren BDNF en NT-3 en de ontstekingsremmer dexamethason) langzaam in het binnenoor worden afgegeven, kunnen bijdragen aan het behoud van het resterend akoestisch gehoor. Het project bouwt voort op eerder onderzoek bij cavia's waarin een beschermend effect van de neurotrofe factoren na ototoxische behandeling is aangetoond. Nieuwe, praktisch toepasbare behandelmethoden en de effecten daarvan zullen in dit project worden onderzocht in doofgemaakte cavia's waarin een CI wordt geïmplantéerd. Hierbij zullen de beschermende medicijnen direct in het binnenoor op verschillende manieren worden toegediend: in de vorm van een hydrogel (gelatine-tyramine, GTA), en in de vorm van twee verschillende typen drug-eluting elektrode arrays (DEE, nieuw ontwikkelde prototypen CI). In eerste instantie worden histologische en functionele effecten van CI-implantatie op het gehoororgaan, spiraal ganglion en de gehoorzenuw onderzocht in normaal horende cavia's en in cavia's met verschillende mate van gehoorverlies. Daarna wordt de beschermende werking van neurotrofe factoren en corticosteroïden in deze modellen onderzocht.
2. Voor zover de DEC bekend, is er geen mogelijk tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de dierexperimenten in de weg zou kunnen staan.
3. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën, te weten fundamenteel onderzoek en toegepast onderzoek, sluiten aan bij de hoofddoelstelling(en).

Belangen en waarden

4. Het directe doel van het project is het testen van toedieningsmethoden van medicatie waardoor het restgehoor bij cochleaire implantatie behouden blijft. Het uiteindelijke doel van het project is om de kennis hierover te vergroten en toepasbaar te maken om de kwaliteit van het restgehoor van CI-patiënten te kunnen verbeteren. De DEC is van mening dat er een duidelijke relatie is tussen het directe en het uiteindelijke doel, en dat het doel gerechtvaardigd is in de context van het audiologisch onderzoeksveld en de behoeften vanuit de KNO-gezondheidszorg om betere zorg voor dove mensen te kunnen leveren.

5. De belangrijkste belanghebbenden in dit onderzoeksproject zijn: proefdieren, onderzoekers, dove mensen, de leveranciers van de hydrogel en de nieuwe cochleaire implantaten, en de financierende partijen. De cavia's hebben er als proefdieren groot belang bij niet ingezet te worden voor de experimenten. De onderzoekers hebben belang bij onderzoeksresultaten gezien hun jarenlange inzet op dit vakgebied en de mogelijke bijdrage aan het verbeteren van de zorg voor deze groep patiënten. De leveranciers hebben eveneens een groot (commercieel) belang bij positieve resultaten uit dit onderzoek aangezien dit kan leiden tot nieuwe toepassingsmogelijkheden van hun producten. Dit geldt eveneens voor geldverstrekende organisaties. Tot slot hebben de mensen met een sterk verminderd gehoor, en dan met name de toekomstige CI-patiënten, een groot belang bij meer inzicht in therapeutische mogelijkheden die kunnen bijdragen aan het voorkomen van verder gehoorverlies waardoor voor vele mensen de kwaliteit van leven zal toenemen.
6. De aanvrager geeft niet aan nadelige effecten op het milieu te verwachten. De DEC ziet geen aanleiding om aan te nemen dat zich toch nadelige effecten zullen voordoen.

Proefopzet en haalbaarheid

7. De kennis en kunde van de ervaren onderzoeksgroep met o.a. het caviamodel en de chirurgische ingreep met betrekking tot de CI, 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.
8. Het project is goed opgezet en in fases ingedeeld (training, acute en chronische experimenten) met daarbij duidelijke beslismomenten zoals het keuzemoment na het testen van het optimale type CI (fase 1) en het testen van de medicatie (fase 2 en 3). De voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters sluiten logisch en helder aan bij de aangegeven doelstellingen. De DEC heeft gediscussieerd over de (financiële) haalbaarheid van het project en de onderzoeker heeft dit voldoende toegelicht en geborgd. Daarnaast vroeg de DEC zich af of de op maat gemaakte implantaten voor de cavia's effect zou hebben op de afgifte en hoeveelheid medicatie, en daardoor op de transleerbaarheid naar de mens. De onderzoeker heeft voldoende onderbouwd dat het om een verkorting gaat en de diameter vergelijkbaar is aan het humane implantaat. Een ander aandachtspunt voor de DEC was de langdurige afgifte van het middel in de hydrogel in de cochlea. De onderzoeker heeft de afgiftekinetiek volgens de DEC voldoende onderbouwd. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project.

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 EU richtlijn)
- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e lid 2)
- Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV EU 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 EU richtlijn. De dieren worden sociaal gehuisvest. Om te voorkomen dat dieren individueel gehuisvest moeten worden, in verband met onderlinge agressie en daardoor de aangebrachte essentiële materialen kunnen beschadigen, worden alleen vrouwelijke cavia's aangekocht. De DEC kan zich vinden in deze keuze.
11. Het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven is met 'matig' realistisch ingeschat en geclassificeerd. De dieren (23 cavia's) benodigd voor de training en een deel van het experiment in fase 1 zullen na de operatie niet uit de narcose ontwaken waardoor sprake is van terminaal ongerief. De overige dieren ondergaan gedurende acht weken grotendeels dezelfde procedure. Het matig ongerief ontstaat met name doordat de cavia's onder algehele anesthesie blijvend doof gemaakt worden. De DEC heeft bediscussieerd of de ongeriefinschatting bij het doof maken van de dieren hoger zou kunnen zijn door eventuele evenwichtsstoornissen of angst na het doof wakker worden maar de onderzoeker heeft voldoende onderbouwd dat dit niet het geval is. Tevens wordt o.a. onder narcose operatief een cochlea-implantaat aangebracht en worden herhaaldelijk metingen van de gehoorfunctie (ABR, ECochG en eCAP) uitgevoerd. Naast de algehele narcose zal zowel pre- als postoperatieve analgesie en lokale pijnstilling toegediend worden. Na acht weken worden alle dieren gedood voor histologisch onderzoek.
12. De integriteit van de meeste dieren wordt met name fysiek aangetast door de geïnduceerde doofheid, de meerdere malen anesthesie, de CI-operatie, de elektrofysiologische metingen en de vroegtijdige dood.
13. De humane eindpunten, zoals onvoldoende doof, niet-geslaagde cochleaire implantatie, gewichtsverlies of lethargie, zijn in de bijlage dierproeven goed gedefinieerd en het percentage dieren (15%) dat naar verwachting een humaan eindpunt bereikt is goed ingeschat.

3V's

14. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er voor dit project geen geschikte vervangingsalternatieven zijn omdat alleen bij levende dieren met een intact gehoororgaan de metingen aan het slakkenhuis uitgevoerd kunnen worden.

15. Het aantal te gebruiken dieren, jongvolwassen cavia's, is realistisch ingeschat en er is een heldere strategie om ervoor te zorgen dat tijdens het project met het kleinst mogelijke aantal dieren wordt gewerkt waarmee nog een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Zo worden de chirurgische vaardigheden m.b.t. de CI vooraf aan het project eerst op kadavers van cavia's uitgevoerd alvorens men op proefdieren start waardoor minder dieren nodig zijn. Daarnaast zijn geen extra controledieren nodig omdat het niet-geïmplanteerde slakkenhuis van het dier zelf als controle dient.
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 waaronder een ruime acclimatisatieperiode, analgesie (zowel voor, tijdens als na de operatie) en een warmtemat.
17. Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Er zullen alleen vrouwelijke dieren gebruikt worden om de operatief aangebrachte materialen niet te beschadigen door mogelijke gevechten tussen mannelijke cavia's. De DEC is er van overtuigd dat de aanvrager in voldoende mate heeft onderbouwd dat het, om de doelstellingen te bereiken en individuele huisvesting van mannelijke dieren te voorkomen, noodzakelijk is om de proeven met alleen vrouwelijke dieren uit te voeren.
19. De dieren worden in het kader van het project direct na de operatie (terminaal) of na 8 weken gedood waarna de slakkenhuizen postmortem verwijderd worden voor histologisch onderzoek. De dieren worden op een passende wijze, in overeenstemming met bijlage IV van de EU richtlijn, gedood.
20. De vraag over hergebruik is niet van toepassing omdat de dieren gedood worden in het kader van het experiment.

NTS

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

D. Ethische afweging

1. De morele vraag die de DEC dient te beantwoorden is of het belang van dit onderzoek, namelijk het onderzoeken van toedieningsmethoden voor medicatie in het middenoor bij cochleaire

implantatie, om het akoestisch restgehoor zoveel mogelijk te behouden, de onvermijdelijke aantasting van het welzijn en de integriteit van de gebruikte proefdieren rechtvaardigt.

2. Er vindt een aanzienlijke aantasting van welzijn en integriteit van de in totaal 245 proefdieren plaats, met voor 23 cavia's terminaal ongerief en voor 222 cavia's matig ongerief. Indien de hierboven genoemde doelstelling behaald wordt, dan zal dit project er toe bijdragen dat er mogelijk een verbeterde therapie of hulpmiddel voor CI-patiënten ontwikkeld kan worden waardoor zij beter kunnen horen. Het is aannemelijk dat de fundamentele en toegepaste doelstellingen behaald zullen worden. Daarvoor is de inzet van proefdieren noodzakelijk, maar de onderzoekers doen al het mogelijke om het ongerief voor de dieren en het aantal dieren tot een minimum te beperken.
3. Op grond van het bovenstaande is de DEC van oordeel dat het ontwikkelen van een optimale toedieningsmethode van medicatie bij een cochleaire implantatie een substantieel belang vertegenwoordigt en dat dit belang opweegt tegen de aanzienlijke aantasting van het welzijn en de integriteit van de proefdieren. Voor de mensen met een cochleair implantaat (en hun naasten) kan de kwaliteit van leven verbeteren als zij onder verschillende omstandigheden beter kunnen blijven horen. De relatie tussen het directe en het uiteindelijke doel is voldoende helder. Het is aannemelijk dat de directe doelstelling behaald zal worden. De commissie is overtuigd van de kwaliteit van het werk van de aanvrager. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn, dat het doel niet met minder dieren behaald kan worden, dat de gebruikte aanpak de meest verfijnde is en dat er geen sprake zal zijn van onbedoelde negatieve effecten voor mens, dier en milieu als gevolg van de dierproeven. Het gebruik van de proefdieren zoals beschreven in de aanvraag is daarmee gerechtvaardigd.

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 is gebaseerd op consensus.

3. Het volgende aandachtspunt is, buiten de context, naar voren gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies: mensen kunnen (bijna) doofheid zeer verschillend ervaren en de dovengemeenschap heeft een eigen subcultuur. Een sterk verminderd gehoor leidt vaak tot beperkingen in de intermenselijke communicatie met als gevolg een gevoel van eenzaamheid. Nu ligt de nadruk sterk op hulpmiddelen voor slechthorenden om aansluiting te houden bij de horenden. Echter, de omgeving zou ook beter voorbereid kunnen worden op een maatschappij met minder-horenden, inherent aan ouder worden of veroorzaakt door harde muziek (steeds meer een probleem bij jongeren), door bijvoorbeeld op de basisschool al gebarentaal te leren. Dit is echter maar deels een oplossing; een sterk verminderd gehoor kan ook veel plezier ontnemen zoals bij het (niet meer kunnen) genieten van muziek. Tevens is doofheid soms, maar vaak ook niet leefstijlgerelateerd en buiten de invloed van de patiënt om ontstaan. Het feit dat sommige 'doven' wellicht geen behoefte hebben om weer enigermate 'horend' te worden conflicteert niet met het feit dat bij anderen een grote behoefte bestaat weer beter te kunnen horen. Zo zijn CI als gebarentaal en liplezen naast elkaar van belang.



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

UMC Utrecht

[Redacted]

Postbus 12007

3508 GA UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 93118
2509 AC Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0800 789 0789
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD11500202418469

Bijlagen

2

Datum 1 november 2024

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [Redacted]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 1 november 2024. Het gaat om uw project "Bescherming van de cochlea bij cochleaire implantatie". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD11500202418469. 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, stuur een e-mail naar info@zbo-ccd.nl of neem telefonisch contact met ons op: 0800 789 0789.

Datum:

1 november 2024

Aanvraagnummer:

AVD11500202418469

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur



Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 11500
Naam instelling of organisatie: UMC Utrecht
Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde: [REDACTED]
Postbus: 12007
Postcode en plaats: 3508 GA UTRECHT

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: Wetenschappelijk onderzoeker
Afdeling: Keel-, Neus- en Oorheelkunde
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: Arts-onderzoeker
Afdeling: Keel-, Neus- en Oorheelkunde
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 november 2024
Geplande einddatum: 30 oktober 2029
Titel project: Bescherming van de cochlea bij cochleaire implantatie
Titel niet-technische samenvatting: Bescherming van cochleaire structuren bij cochleaire implantatie
Naam DEC: DEC Utrecht
Postadres DEC: Postbus 85500 3508 GA Utrecht
E-mailadres DEC: dec-utrecht@umcutrecht.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen:

€ 1.617,-

De leges voldoet u:

na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen:

 Projectvoorstel Beschrijving Dierproeven Niet-technische samenvatting**Ondertekening**

Naam:

[REDACTED]

Functie:

[REDACTED]

Plaats:

Utrecht

Datum:

1 november 2024



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

UU-ASC
Postbus 80.011
3508 TA UTRECHT


**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 93118
2509 AC Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0800 789 0789
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD11500202418469
Bijlagen
2

Datum 1 november 2024
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur
Factuurdatum: 1 november 2024
Vervaldatum: 1 december 2024
Factuurnummer: 2418469
Ordernummer: CB.841910.3.01.011

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD11500202418469	€ 1.617,00

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 te 's Gravenhage.

From: info@zbo-ccd.nl
To: [Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht](#)
Cc: [REDACTED] dec-utrecht@umcutrecht.nl
Subject: Aanhouden AVD11500202418469
Date: vrijdag 13 december 2024 16:48:08

CAUTION: This email originated from outside of Utrecht University. Do not click links or open attachments unless you recognize the sender and know the content is safe.

Geachte [REDACTED]

Op 01-11-2024 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Bescherming van de cochlea bij cochleaire implantatie" met aanvraagnummer AVD11500202418469. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In dit bericht leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om uw aanvraag verder te kunnen beoordelen:

Niet technische samenvatting

- De titel van uw ingediende NTS is lastig navolgbaar. Kunt u de titel aanpassen in begrijpelijk Nederlands, zodat deze navolgbaar is voor het algemene publiek?

- U heeft uw NTS ingediend in een PDF format. Kunt u uw herziene NTS indienen in het daarvoor bestemde Excel bestand?

Onduidelijkheden

- In de bijlage dierproeven geeft u aan dat de dieren in groep A1 terminaal ongerief zullen ervaren. Echter omschrijft u in de NTS dat deze dieren gehanteerd zullen worden en er een gehoormeting zal plaatsvinden, wat licht ongerief met zich mee brengt. Wanneer dit het geval is voor de dieren in groep A1 kan men niet spreken van terminaal ongerief. Kunt u dit met elkaar in overeenstemming brengen?

- In de bijlage dierproeven onderbouwt u waarom u het desbetreffende aantal dieren aanvraagt, waar u ook spreekt over het overleg met een statisticus. Echter kan de CCD niet terug vinden hoe deze poweranalyse is opgebouwd in het berekenen van het aangevraagde aantal dieren. Kunt u verduidelijken wat de statistische power berekening is voor uw onderzoek?

- Mochten uw antwoorden voor vrijdag 20 december a.s. door ons ontvangen zijn, kunnen deze worden meegenomen tijdens de inhoudelijke bespreking van uw dossier in de vergadering van de CCD.

Zonder deze aanvullende informatie kan de beslissing nadelig voor u uitvallen omdat de gegevens onvolledig of onduidelijk zijn.

Opsturen binnen veertien dagen


Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van dit bericht op. U kunt dit aanleveren via NetFTP.

Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Mocht u vragen hebben, dan kunt u uiteraard contact met ons opnemen.

Met vriendelijke groet,
Namens de Centrale Commissie Dierproeven


www.centralecommissiedierproeven.nl

.....
Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag
.....

T: 0800 789 0789
E: info@zbo-ccd.nl

Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is gezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen.

De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message.

The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.

Aan: Centrale Commissie Dierproeven

Betreft: AVD11500202418469

19 december 2024

Geachte leden van de CCD,

Dank voor uw behandeling van onze aanvraag en uw vragen.

Punt voor punt volgen hier de antwoorden op uw vragen.

Niet technische samenvatting

De titel van uw ingediende NTS is lastig navolgbaar. Kunt u de titel aanpassen in begrijpelijk Nederlands, zodat deze navolgbaar is voor het algemene publiek?

Antwoord: De titel was “Bescherming van cochleaire structuren bij cochleaire implantatie” en is nu gewijzigd naar “Bescherming van het slakkenhuis bij het plaatsen van hoorimplantaten”

U heeft uw NTS ingediend in een PDF format. Kunt u uw herziene NTS indienen in het daarvoor bestemde Excel bestand?

Antwoord: De NTS is nu in Excel gezet.

Onduidelijkheden

In de bijlage dierproeven geeft u aan dat de dieren in groep A1 terminaal ongerief zullen ervaren. Echter omschrijft u in de NTS dat deze dieren gehanteerd zullen worden en er een gehoormeting zal plaatsvinden, wat licht ongerief met zich mee brengt. Wanneer dit het geval is voor de dieren in dieren in groep A1 kan men niet spreken van terminaal ongerief. Kunt u dit met elkaar in overeenstemming brengen?

Antwoord: De gehoormeting wordt gedaan terwijl de dieren onder anesthesie zijn. De NTS was onjuist op dit punt en is aangepast. NTS en de DAP zijn hiermee in overeenstemming gebracht.

In de bijlage dierproeven onderbouwt u waarom u het desbetreffende aantal dieren aanvraagt, waar u ook spreekt over het overleg met een statisticus. Echter kan de CCD niet terug vinden hoe deze poweranalyse is opgebouwd in het berekenen van het aangevraagde aantal dieren. Kunt u verduidelijken wat de statistische power berekening is voor uw onderzoek?

Antwoord: De powerberekening is verder toegelicht in de bijlage (p. 11). De power (0.85) en effectgrootte (1.0) waarmee gerekend is expliciet benoemd.

Vriendelijke groeten,

[Redacted]

Afdeling Keel-, Neus- en Oorheelkunde

UMC Utrecht

[Redacted]



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

UMC Utrecht

[Redacted]

Postbus 12007

3508 GA UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 93118

2509 AC Den Haag

centralecommissiedierproeven.nl

0800 789 0789

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD11500202418469

Bijlagen

3

Datum 8 januari 2025

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [Redacted]

Op 1 november 2024 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Bescherming van de cochlea bij cochleaire implantatie" met aanvraagnummer AVD11500202418469. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed. Uit artikel 10a, eerste lid van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) volgt daarom dat het is toegestaan om uw project uit te voeren binnen de gestelde vergunningsperiode. Deze vergunning wordt afgegeven voor de periode van 8 januari 2025 tot en met 30 oktober 2029.

De onderbouwing van deze beslissing vindt u onder 'Overwegingen'.

Procedure

Advies dierexperimentencommissie

Wij hebben advies gevraagd bij de dierexperimentencommissie DEC Utrecht (hierna: DEC). Dit advies is ontvangen op 10 december 2024. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, derde lid van de wet.

Nadere vragen aanvrager

Op 13 december 2024 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft tijdig antwoord gegeven. Het verzoek om aanvullingen had betrekking op aanpassingen in de niet-technische samenvatting en verduidelijkingen omtrent de statische analyses. Uw reactie is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

Datum:

8 januari 2025

Aanvraagnummer:

AVD11500202418469

Overwegingen

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de DEC, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

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 93118, 2509 AC 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. Nadat u een bezwaarschrift heeft ingediend kunt u een voorlopige voorziening vragen bij de voorzieningenrechter van de rechtbank in de vestigingsplaats van de vergunninghouder. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisende situatie.

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 vergunninghouder valt.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl, stuur een e-mail naar info@zbo-ccd.nl of neem telefonisch contact met ons op: 0800 789 0789.

Datum:

8 januari 2025

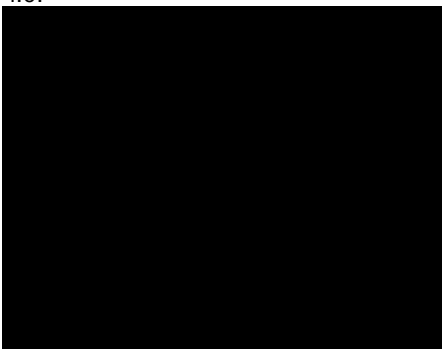
Aanvraagnummer:

AVD11500202418469

Centrale Commissie Dierproeven

namens deze:

i.o.



Bijlagen:

- Projectvergunning
- 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: 3508 GA UTRECHT
Deelnemersnummer: 11500

deze projectvergunning voor het tijdvak 8 januari 2025 tot en met 30 oktober 2029, voor het project "Bescherming van de cochlea bij cochleaire implantatie" met aanvraagnummer AVD11500202418469, na advies van dierexperimentencommissie DEC Utrecht. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Wetenschappelijk onderzoeker. Het besluit is gebaseerd op de volgende (aangepaste) stukken:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 1 november 2024
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 8 januari 2025;
 - b Bijlagen dierproeven
 - 3.4.3.1. Nieuwe toedieningsmethodes van medicijnen aan de cochlea bij cochleaire implantatie, zoals ontvangen op 8 januari 2025;
 - c Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 8 januari 2025;
 - d Advies van dierexperimentencommissie, zoals ontvangen op 10 december 2024
 - e De aanvullingen op uw aanvraag, zoals ontvangen op 8 januari 2025.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ongerief
3.4.3.1. Nieuwe toedieningsmethodes van medicijnen aan de cochlea bij cochleaire implantatie			
	Cavia's (Cavia porcellus)	245	9,4% Terminaal 90,6% Matig

Geldende voorschriften

Wij wijzen u op onderstaande geldende voorschriften, die volgen uit artikel 1d, vierde lid, artikel 10, eerste lid en/of artikel 10a3 van de wet.

- Go/ no go momenten worden voor aanvang van elk experiment afgestemd met de IvD.
- Het is verboden 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.
- Het is verboden dierproeven te verrichten voor een doel waarvan het belang niet opweegt tegen het ongerief dat aan het proefdier wordt berokkend.
- Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.



Aanvraagnummer:

AVD11500202418469

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, derde lid van de wet. Uit artikel 10b, eerste lid van de wet 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, eerste lid van de wet de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven. Artikel 10b, tweede en derde lid van de wet schrijven 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 van de wet 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

Aanvraagnummer:
AVD11500202418469

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

Einde van een dierproef

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

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

In artikel 13d van de wet 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.