

	Dossier: AVD1080020173964	
		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	
	Evt. antwoorden aanvrager	
7	Beschikking en vergunning	X
8		
9		
10		



Format

Niet-technische samenvatting

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Titel van het project Wat maakt gewrichtsdistractie zo succesvol in het herstellen van artrose?
- 1.2 Looptijd van het project 2017-2022
- 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) Gewrichtsslijtage (artrose), gewrichtsdistractie, weefselherstel (regeneratie)

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Projectbeschrijving

- 3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)
- Recentelijk is gewrichtsdistractie, een behandeltechniek waarbij twee delen van een (knie)gewricht tijdelijk uit elkaar worden gehouden met behulp van een frame, ontwikkeld om een versleten gewricht (artrose) te behandelen. De afgelopen jaren is een groot aantal patiënten met een versleten kniegewricht en die in aanmerking kwamen voor een kunstknie behandeld met deze gewrichtsdistractie wat een goed resultaat opleverde: de patiënten kregen minder pijn en bewogen soepeler voor een langdurige periode. Opvallend was dat ook het weefsel in het kniegewricht (het kraakbeen) herstelt, iets wat voor lange tijd als onmogelijk werd gehouden. De distractie behandeling kan het vervangen van het eigen gewricht hiermee langdurig uitstellen.
- Het is onbekend hoe deze kniedistractie de gezondheid van het gewricht precies herstelt en hoe het de pijnlijkheid vermindert. In dit project zal worden uitgezocht op welke manieren de weefsels in het gewricht reageren

na distractie om dit herstel proces beter te begrijpen. Er is een vermoeden dat stamcellen mogelijk een rol spelen en ook dit wordt verder onderzocht. Hiermee wordt onderzocht welke (cel) reacties de sleutel vormen tot dit weefselherstel. Deze kennis is draagt bij aan het verder verbeteren van de gewrichtsdistractie behandeling en geeft mogelijk nieuwe mogelijkheden voor behandeling.

3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?

Artrose is niet te genezen. Deze patiënten worden dan ook meestal behandeld met pijnstillers en adviezen omtrent het levenspatroon. Wanneer de slijtage zo ernstig is dat de patiënt veel pijn heeft en/of niet meer kan lopen, wordt een gewricht vervangen door een kunstgewricht (prothese). De levensduur van een prothese ligt rond de 15 tot 20 jaar. Dit kan een probleem zijn voor patiënten die op een leeftijd jonger dan 60 jaar geopereerd worden en er vaak opnieuw vervanging van het gewricht nodig is. Deze zogenaamde revisie is zeer complex en kent een slechte uitkomst. Voor deze specifieke doelgroep is de distractietechniek ontwikkeld.

Deze studie zal zorgen voor de verdere wetenschappelijke onderbouwing van het herstellend effect van de distractie. De opgedane kennis draagt bij om de behandeling te gebruiken bij een bredere groep patiënten met gewrichtsslijtage toegepast worden (mogelijk ook andere gewrichten). Daarnaast kan het helpen om de behandeling verder te verfijnen. Tevens kan de opgedane kennis gebruikt worden om nieuwe behandelingen te ontwikkelen die zich richten op het stimuleren van het eigen herstelmechanisme van het gewricht. Op de lange termijn zullen dan minder patiënten vergevorderde artrose ontwikkelen.

3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?

De hond, het kniegewricht is zeer goed vergelijkbaar met die van de mens, zal gebruikt worden als diersoort. Voor het onderzoek zullen maximaal 56 experimentele honden nodig zijn over een periode van 5 jaar. Daarnaast zullen we in deze studie 20 honden patiënten includeren met toestemming van de eigenaar, zodat we ook informatie direct vanuit de kliniek hebben.

3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?

In deze studie worden experimentele honden en honden patiënten gebruikt. Alleen in experimentele honden wordt artrose van het kniegewricht aangebracht (krasjes in het kraakbeen) onder algehele verdoving. In de weken hierna zullen deze experimentele dieren artrose ontwikkelen en een beetje mank gaan lopen (matig ongerief). Het plaatsen van de pinnen die voor de distractie zorgen, wordt onder algehele verdoving uitgevoerd met matig ongerief als gevolg. Het effect van de distractie op de beweging van het dier wordt door middel van klinisch onderzoek vastgesteld, wat een gering ongerief zal veroorzaken. Gedurende het onderzoek nemen we enkele keren bloed en gewrichtsvocht af om het herstelproces te volgen. Dit wordt uitgevoerd onder een kort roesje en gaat gepaard met gering ongerief. Bij honden patiënten die behandeld worden middels gewrichtsdistractie voor ernstige artrose, zullen we, na toestemming van de eigenaar, op vaste tijdstippen gewrichtsvocht afnemen om het herstel proces te volgen. Dit doen we om de gegevens te verifiëren die uit de experimentele dieren komen.

3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?

De verwachte ernst over het gehele onderzoek voor experimentele honden varieert van gering tot matig ongerief. Tijdens de studie zal >98% van de experimentele honden te maken krijgen met matig ongerief. Minder dan 2% van de honden heeft kans op ernstig ongerief als er sprake is van een onvoorziene gebeurtenis zoals een heftige ontstekingsreactie van de knie op een van de technieken.

Bij honden patiënten waarbij we gewrichtsvocht verzamelen is het ongerief minimaal.

3.6 Wat is de bestemming

In alle gevallen worden de experimentele dieren gedood om de weefsels te

van de dieren na afloop? kunnen onderzoeken. Delen van het dier die niet nodig zijn voor dit onderzoek, zullen gebruikt worden voor onderzoeken van andere onderzoekers.

4 Drie V's

4.1 Vervanging

Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdierlijke alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

Voorafgaand aan dit onderzoek is veel onderzoek uitgevoerd met cellen en weefsels in het laboratorium om meer te weten te komen over hun eigenschappen. Artrose is een ziekte waarbij allerlei weefsel in het gewricht afhankelijk van elkaar reageren en is het dus maar beperkt mogelijk om dit met de losse cellen of weefsels in het laboratorium te onderzoeken. Ook ontbreekt de belasting in dergelijke experimenten vaak en is dierexperimenteel onderzoek de enige optie om deze elementen mee te nemen in het onderzoek. Op dit moment zijn we bezig om alternatieve instrumenten te ontwikkelen in de vorm van een zogenaamde bio-mechano-reactor waarin een geheel kniegewricht kan worden geplaatst en zowel de biologische condities (interacties van meerdere weefsels) als wel de belasting op de knie (en beweging) kan worden nagebootst op een gecontroleerde manier. Op deze manier kunnen we makkelijker het ontstaan van artrose en behandelingen bestuderen zonder daar een gehele dierproef voor te doen. Helaas zijn we nog niet zover dat we dit instrument al kunnen gebruiken ter vervanging van een dierproef. In het levend dier kunnen we het samenspel van alle gewrichtsweefsels met elkaar onderzoeken, in de aanwezigheid van beweging en belasting van de gewrichten. Op deze manier kan er worden onderzocht hoe distractie zorgt voor een goed herstellend effect op langdurige artrose.

4.2 Vermindering

Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.

We gebruiken meerdere technieken per proefdier om zo zoveel mogelijk kennis per dier te vergaren. Technieken zoals: loopanalyses, bloed- en gewrichtsvochtonderzoek, beeldvormende technieken en microscopisch/biochemisch/biomoleculair weefsel onderzoek. Op deze manier hoeven we minder dieren te gebruiken. Bovendien zullen we, in de meeste gevallen, artrose induceren in beide knieën van 1 dier, zonder dat het ongerief van het dier toeneemt. Hierdoor is het dier zijn eigen controle op de behandeling waardoor er over de gehele lijn minder proefdieren nodig zijn.

4.3 Verfijning

Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diersoort(en) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

Honden ontwikkelen ook artrose zoals mensen doen. Het gebruikte model is een goed gevalideerd model dat goed de ziekte nabootst zoals deze bij mensen voorkomt; een langzaam progressieve gewrichtsaandoening. Daarnaast is in dit diersoort in het verleden gewrichtsdistractie van de knie gebruikt om het kraakbeenherstel op langere termijn aan te tonen. Qua bouw is het gewricht van een hond goed vergelijkbaar met het gewricht van een mens, wat ook geldt voor de samenstelling van het kraakbeen. Ook de mechanische belasting is beter vergelijkbaar met de belasting in een menselijk gewricht in vergelijking met de kleinere proefdiermodellen zoals muizen en ratten. Daarnaast zijn de bevindingen van dit onderzoek niet alleen bruikbaar voor de (menselijke) geneeskunde maar ook voor de diergeneeskunde aangezien honden ook artrose klachten kunnen ontwikkelen waardoor de bevindingen uit deze studie ook daar kunnen worden toegepast.

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

We passen waar nodig verdoving en pijnbestrijding toe. Voor de hond is veel bekend over pijn en pijnbestrijding en zijn er uitgebreide richtlijnen beschikbaar. De honden mogen dagelijks vrij bewegen en spelen.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen



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 bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in 10800 <input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Universiteit Utrecht
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	30275924
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht
		Postbus	80125
		Postcode en plaats	3508 TC Utrecht
		IBAN	NL27INGB0000425267
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Utrecht
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
		Functie	UHD
		Afdeling	Faculteit Diergeneeskunde
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	UHD
		Afdeling	Universitair Medisch Centrum Utrecht
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]

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

2 Over uw aanvraag

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

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- | | |
|------------|---------------|
| Startdatum | 10 - 1 - 2018 |
| Einddatum | 9 - 1 - 2023 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Exploring cartilage regeneration due to joint distraction in the dog
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Wat maakt gewrichtsdistractie zo succesvol in het herstellen van artrose?
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|-------------------------------|
| Naam DEC | DEC Utrecht |
| Postadres | Postbus 85500 3508 GA Utrecht |
| E-mailadres | dec-utrecht@umcutrecht.nl |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1035 Lege
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer. Via een eenmalige incasso
 Na ontvangst van de factuur

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging
-

6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:
- Centrale Commissie
 Dierproeven
 Postbus 20401
 2500 EK Den Haag
- Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende verklaart:
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de instantie voor Dierenwelzijn.
 - dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
 - dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
 - dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
 - dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam

Functie

Plaats

Datum

Handtekening

[Redacted Name and Function]

Utrecht

7-11-2017

[Redacted Signature]



Form

Project proposal

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

1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. 10800
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. Utrecht University
- 1.3 Provide the title of the project. Exploring cartilage regeneration due to joint distraction in the dog

2 Categories

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

3 General description of the project

3.1 Background

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

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

Osteoarthritis (OA) constitutes a growing socio-economic problem with a prevalence of over 10% in the world¹. After decades of searching for the right treatment procedure (including stem cells, scaffolds, chondrocytes, and growth factors), there still is no comprehensive insight in the requirements needed for cartilage repair²⁻⁴. When conservative treatment of OA fails, including lifestyle advice and oral or local analgesia, the only alternative is surgical therapy, i.e. arthroplasty. The latter is less favourable for young, physically active patients with late stage OA, given that multiple replacements will be necessary on the long term and they are in employment age⁵⁻⁷. At present none of the current cartilage repair strategies have generated long lasting, hyaline cartilage replacement tissue that meets the functional demands placed upon this tissue in vivo **except for joint distraction**. It has been demonstrated unambiguously both in clinical (Figure 1) and experimental studies that joint distraction results into significant, rapid, and prolonged cartilage repair⁸⁻¹³.

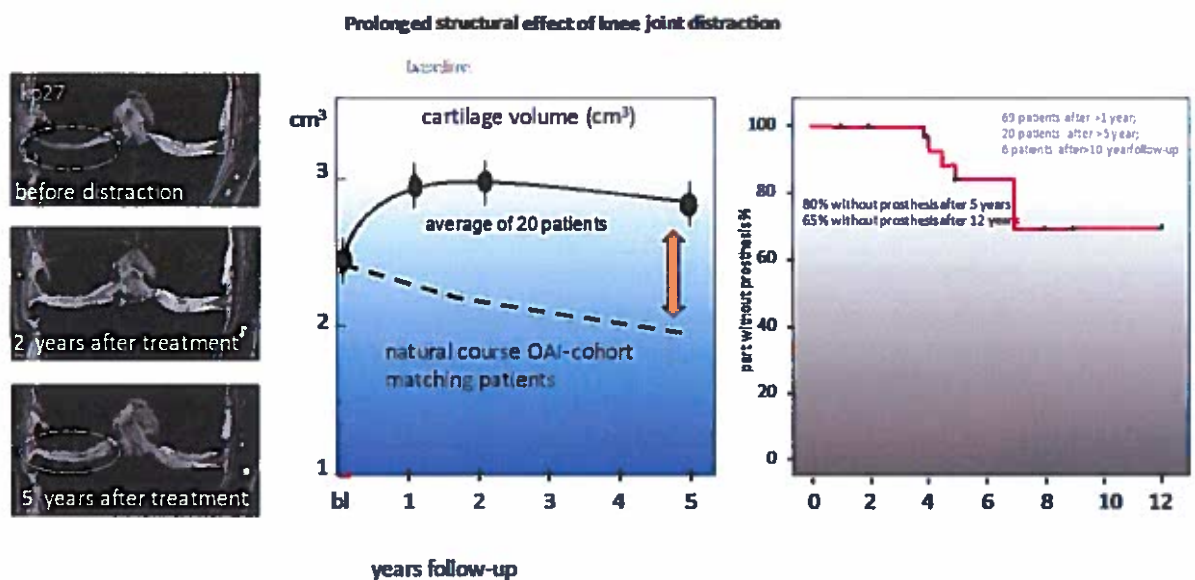


Figure 1. Clinical studies with patients treated with joint distraction demonstrate prolonged cartilage repair as illustrated by increase cartilage thickness on MR (left), increase in cartilage volume (middle) and prolonged postponement of joint replacement upon treatment with distraction (>10 years) as indicated by the survival curve of the patients treated (right).

It is postulated that this treatment triggers an intrinsic response that resets mechanical and biochemical joint homeostasis including involvement of mesenchymal stromal cells (MSCs)^{8,14,15}. As such, this project aims to elucidate the molecular and cellular basis of cartilage regeneration as seen with joint distraction. The initial catabolic environment of the distracted joint followed by the anabolic/repairative phase after removal of the distraction will be delineated. Moreover, this project provides a fine tuned platform for identifying (proper) biomarkers that characterize the pro-catabolic osteoarthritic joint and the pro-anabolic regenerative joint.

Preparatory work: In order to address the underlying processes involved in cartilage repair during joint distraction, we evaluated as a first step the early transcriptional response in the experimental OA canine "Groove model"¹⁶. The qRT-PCR data-set confirmed upregulation of typical OA markers in untreated OA joints. Four weeks of distraction (resembling the half of treatment-time in the human situation) induced significant upregulation of genes from several pathways related to regeneration in the distracted vs. untreated OA-knees. Notably, after 4 weeks of joint distraction increased extracellular matrix turnover was demonstrated at mRNA level and a significantly higher histological OARSI score (a validated score grading cartilage degeneration) for the distracted vs untreated OA-knees. The latter seems to be in contradiction with the final outcome of distraction in experimental animals and human patients, which is a prolonged improvement in extracellular matrix (ECM) quality. These findings are however in line with

biochemical biomarkers in human clinical studies showing that during distraction catabolic markers are prominent and only at later stages of the treatment anabolism is evident.

Moreover it is recently demonstrated that joint distraction alters the synovial fluid such that it enhances the ability of synovial MSCs to adhere to the osteoarthritic cartilage surfaces¹⁴ supporting the hypothesis of MSC involvement in the observed cartilage repair due joint distraction. It is anticipated that joint distraction provides the appropriate biomechanical and biochemical intra-articular milieu, facilitating MSC attachment and their cartilage repair activity.¹⁴ There are several MSC niches present adjacent to the cartilage including those in the joint fat tissue, synovium, synovial fluid and subchondral bone marrow. Activation and migration of these MSC populations (potentially influenced via the above mentioned mechanisms) may play an additional important role.

All together, these preliminary results indicate that joint distraction is initially characterized by a mix of both early anabolic and catabolic transcriptional profiles at the cartilage and subchondral bone level followed by an anabolic phase including a changed joint homeostasis and MSC involvement ultimately leading to cartilage repair in OA. Within the epigenetics regulation, microRNAs (miRNAs) are emerging as key players in OA and regeneration. miRNAs are non-coding small RNAs that regulate a wide diversity of transcriptional responses. Although the physiological function of most of the miRNAs is still unknown, there is clear evidence that points towards an important role of miRNAs in OA. Given that miRNAs can modify the transcriptional behavior of crucial genes in OA, miRNAs may elicit a beneficial regenerative response.

3.2 Purpose

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

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

The current project focusses on a better understanding of the underlying mechanisms orchestrating a reparative response initiated by distraction. For this purpose, OA is induced in the canine stifle joint according to the 'Groove model'. After 10 weeks, distraction of the knee joint is applied. Using this protocol, the dog model recapitulates the clinical benefit of knee distraction¹². The following **key objectives** will be addressed within the timeline of this project:

1. Delineate the intermediate and long transcriptional (RNA and miRNA) response that mediates intrinsic cartilage repair initiated by joint distraction.
2. Validate the regenerative effects of this transcriptional response in joint cartilage at long term follow up.
3. Delineate the role of MSCs in relation to the observed early and intermediate responses that mediates intrinsic cartilage repair initiated by joint distraction.
4. Validate the identified targets and cells in synovial fluid of OA human patients and OA canine joints who underwent knee joint distraction.

Key objective 4 does not concern experimental animals. For human synovial fluid samples ethical approval is already in place (through the METC of the hospital). The canine synovial fluid samples will be collected on the course of the clinical treatment with the owners' consent.

Why are these objectives achievable? There is up and running technical expertise with the studied species (dog) for "omics" and cell approaches that will be employed for the respective objectives. The animal model employed (Groove alone or in combination with distraction) is validated and employed by the researchers several times before and the infrastructure for the in vivo experiments is available. The team working on this project is a multidisciplinary team that has collaborated previously on the same research topic.

3.3 Relevance

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

Social relevance: Osteoarthritis (OA) is the most common disease of the joints. As OA incidence

increases with age, OA will become even more a major health issue and socio-economic problem in the coming decades. Lacking a real cure, OA is currently symptomatically treated with painkillers and physiotherapy, often followed by joint surgery and finally joint replacement if conservative treatment fails. Since joint replacement is expensive and artificial joints have a limited life expectancy, it is very important to improve joint saving treatments in order to improve symptoms, delay the progression of OA and as such delay or even avoid joint replacement.

The advantage of a therapy for patients with advanced symptomatic disease is evident: they are the ones for whom simple measures such as lifestyle advice (weight loss etc.) and simple analgesia have failed. They are often highly symptomatic with significant associated disability. Joint replacement is the treatment of choice for such individuals except in certain circumstances such as young age (where there are concerns about multiple replacements over the patient's lifetime). Irrespective, 40% of the joint replacements are placed at an age below 65 years. The clinical niche for joint distraction appears as such indeed relative young individuals who have failed basic treatments but who are too young (below 65 years) to have joint replacement. These individuals are usually in their 40s or 50s, are physically active (often with a history of sporting injury) and are often as main financiers of a household mid-way their working years. The societal impact of disability in this group is therefore extremely high. Several (randomized) trials have been performed in this group; patients are pleased to accept an intervention that is not joint replacement, not just because of the limited lifetime of the prosthesis, but also because of the reduction in joint stability, and hence function, that is a consequence of replacement surgery.

Looking towards the future such a therapy could be extended to a broader group of individuals with OA as it is well tolerated, has less anesthetic risk than full joint replacement, and it preserves joint function for a prolonged period of time (5-10 years).

Scientific relevance: This proposal will generate evidence and ascribe a cellular, molecular and epigenetic mechanism of the intrinsic cartilage repair initiated by joint distraction, thereby supporting the clinical data and essential to disprove the still existing general opinion that the osteoarthritic joint cannot repair itself. Looking towards the future joint distraction could be improved by a new treatment strategy based on the cellular, molecular/epigenetic mechanisms that as master regulators initiate and support intrinsic cartilage repair. As a spin-off, this project will provide leads for the development of new regenerative strategies based on the mechanisms that successfully drive the regenerative response in distracted joints with severe OA. In clinical practice, this implicates that such a strategy will be based on an injectable that is locally delivered by injection or enhancement of specific intrinsic MSCs, circumventing systemic side-effects of oral medication or complex delivery systems, and restores the homeostasis of the OA joint. It would not only provide an improvement (and maybe even an alternative) for joint distraction; it would also provide for new targets that stimulate intrinsic cartilage repair also for early and mild OA, as well targets that can be implemented in cell-based treatment strategies for cartilage defects.

3.4 Research strategy

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

This is a joint project between departments of different academic institutions with complementary and multidisciplinary expertise that have already an ongoing collaboration. Readily available data will be complemented with new time points, for example at the end of the distraction period (intermediate response, n=8) and 10 weeks thereafter (long term response, n=8) to address key objectives (specifically key objective 1 and 2 of the project).

To delineate the transcriptional response the Canine Groove model of OA will be employed (Figure 2). OA will be bilaterally induced in the right and left stifle joints of the dogs. After 10 weeks, distraction of the knee joint (unilateral, the undistracted knee serves as a control) will be applied over the course of 8 weeks without and with a follow up of 10 weeks to study the dynamics of the transcriptional response initiated by joint distraction. Note: the time point(s) stated here is an example of an intermediate and long term response. These timelines will be further decided upon collaboration with the partners. Material

is readily available on the early transcriptional response as described in the preparatory work and will be analyzed together with the additional time points for a better understanding of the timeline of the reparatory response initiated by joint distraction.

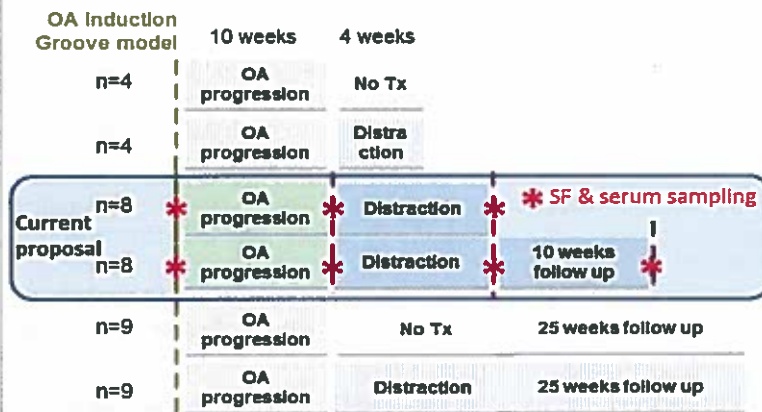


Figure 2. Schematic representation of one of the *in vivo* experiment conducted in skeletally mature dogs to address key objectives 1 to 2. There is readily available material 4 weeks after distraction (middle of distraction period) and 25 weeks after treatment. In the current study set as example, indicated by the blue box, bilateral OA in additional ($n=16$) dogs will be induced. After 10 weeks, unilateral distraction of the knee joint will be applied; the untreated contralateral knee joint served as OA control. Over the course of 8 weeks without and with a follow up of 10 weeks we will study the

dynamics of the transcriptional response initiated by joint distraction.

Studies delineating the additional role of MSCs in joint distraction (Figure 3):

Canine Groove model of OA will be bilaterally induced in the right and left stifle joints of the dogs. During this induction a small piece of the suprapatellar fat pad will be removed to isolate and expand MSCs which will be cryopreserved. After 10 weeks, knee joint distraction will be performed on the right stifle joint (distraction group). The autologous MSCs will be labelled with fluorescent micro-sized particles of iron oxide (FMPIO) to allow cell tracking. The labelled MSCs will be injected in the synovial cavity of both knees within 3-5 days after placement of the external fixation frames. As a first step the effect of MSCs will be studied within 3-5 days after intra-articular injection. Secondly the similar approach will be used to study the effect of these autologous MSCs after the full period of distraction (i.e. 8 weeks of distraction) and thirdly after a 10 week period follow-up (long term). Data provided within these experiments will address key objective 3 and are complementary to the transcriptional experiments but need to be separately executed.

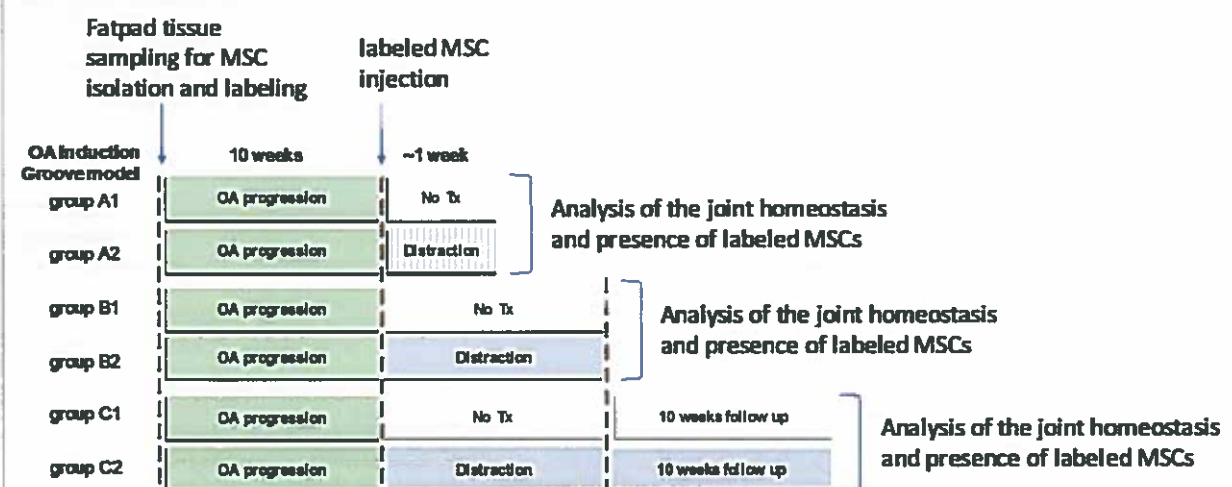


Figure 3. Schematic representation of one of the *in vivo* experiment conducted in skeletally mature dogs to address key objective 3: the role of MSCs in the early and intermediate response to distraction. In the current study set as example, bilateral OA is induced. After 10 weeks, distraction of the knee joint (unilateral) will be applied. In this experimental set up, we study the effect of distraction on the injected MSCs compared to the contralateral OA joint in relation to tissue changes. As a first step the short-term effect of MSCs will be studied within 3-5 days after intra-articular injection (group A1, A2). Secondly the similar approach will be used to study the effect of these autologous MSCs after the full period of

distraction (i.e. 8 weeks of distraction, group B1 and B2) and thirdly after a 10 week period follow-up (long term, groups C1 and C2). Note: in this example group A1&2 represents the left and right joint within one donor, and the same accounts for B1&B2, and C1&C2.

Studies on the biomarkers profile of synovial fluid:

Within this key objective we validate the identified biomarkers in synovial fluid, based on the work done with experimental animals, of OA human and canine patients who underwent knee joint distraction. Biomarkers analysis will focus on biochemical parameters, proteins and miRNAs present within the synovial fluid.

Human patients undergoing joint distraction have synovial fluid sampled at the time of application of the distractor and again at the time of removal of the distractor (6 weeks later) under general anaesthesia by ultrasound guided needle aspiration. Samples have been collected within an ongoing project. Hence, no additional patients need to be approached/included. This study is initiated in September 2015 and has been approved by the Medical Ethical committee of the hospital. Whenever feasible, also halfway during distraction (between 2-4 weeks) synovial fluid were taken by needle aspiration.

On the course of the present project, canine patients with severe OA will be treated with joint distraction. Besides the standard of care, and with the owner's consent, synovial fluid will be collected from the treated joint at several time points, i.e. prior to distraction, halfway and at termination of the distraction, and a maximum of 4 follow up moments.

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

All objectives will be addressed with the same animal model and where possible within the same animal all parameters will be determined. OA will be induced in dogs according to the 'Groove model'¹⁷; after 10 weeks of this OA induction distraction of the OA-knee joint is applied and compared to the contralateral non-distracted OA joints. Using this protocol, the dog model recapitulates the clinical benefit of knee distraction after a follow-up time of 25 weeks in the dogs and 1 year in humans, leading to significant cartilage repair and improvement in repair markers (including type II collagen, proteoglycan synthesis and content).

In the current project, after 1 to 8 weeks of distraction and 10 weeks after removal of the distraction device animals will be euthanatized, and joints will be macroscopically scored and imaged. Read out parameters for key objectives 1-3 include: (a) mRNA and miRNA profiling, (b) biochemical analyses of cartilage matrix components, (c) serum and synovial fluid biomarkers, (d) histopathology (e) MSC presence analysis, amongst other. Specifically within key objective 4, synovial fluid collected from human and canine patients treated with joint distraction will be employed to further validate the findings from the *in vivo* studies with the experimental dogs¹⁸.

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

Taking into account the complexity of the experiments, it is only feasible to conduct experiments with a maximum of 8 mixed breed dogs per series of experiment. The treatment groups will be equally distributed in each series (for example: 4 animals with intermediate follow-up vs 4 animals with long term follow up).

Key objective 1&2 are addressed within the same series of experiments as shown in Figure 1 of the research strategy. The first series of experiments will start with n=8 and follow up for the short term effects. Thereafter, the second set of 8 dogs will be planned to study the long term follow up period and the experiment is repeated. Go/NoGo criteria between these two consecutive sets of experiments are not applicable, as they are part of a complete study design.

Key objective 3 is addressed in a separate series of experiments and can be performed independently of the experiments described for key objective 1&2. Furthermore, the short term experiments (A1, A2 groups in Figure 2) are independent of the long term experiments (B and C groups in Figure 2). In the short term experiments we focus on viability and adherence of the MSCs to the joint tissues and their

effect on tissue level. Regardless of the results, the long term effects of MSC injection in the OA vs OA + distraction environment will be studied in the follow up experiments. Go/NoGo criteria between these two consecutive sets of experiments are not applicable, as they are part of a complete study design.

The results of key objective 3 are complementary to those of key objective 1&2. Where relevant findings of the key objectives can be connected and these will be pursued up in follow-up research e.g. influence of miRNAs on MSCs behavior. For these experiments, we may either employ the bilateral Groove model or the unilateral Groove model. Preferably we work with the bilateral Groove model as hereby, within the same animal and thereby excluding donor variability and minimize the number animals, we can compare the OA joint environment with the distraction + OA joint environment. However, in the case we also need to study how the distracted joint behaves in relation to the healthy situation, we consider to use the unilateral Groove model. Hereby, for example the OA + distraction treated joint can be compared to the contralateral healthy knee joint.

Go/NoGo criteria for the additional experiments: This is clearly dependent on the results of the previous experiments performed within key objective 1 to 3. We can only speculate in this respect. The additional experiments will be planned in order to further underline/explain findings from the 1st series of experiments. Clearly, when no differences are found in the first experiments we need to reconsider the follow-up steps potentially resulting in a no-go.

Within **key objective 4**, synovial fluid collected from human and canine patients treated with joint distraction will be employed to further validate the findings from the in vivo studies with the experimental dogs. Collection of the material occurs throughout the project and is conducted independently of the other objectives.

References

- 1 "Musculoskeletal Health in Europe: Report v5.0" 2012 *European Musculoskeletal Conditions Surveillance and Information Network*. (2012).
- 2 Bijlsma, J. W., Berenbaum, F. & Lafeber, F. P. Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice. *Lancet* **377**, 2115-2126, doi:10.1016/S0140-6736(11)60243-2 (2011).
- 3 Ruiz, M., Cosenza, S., Maumus, M., Jorgensen, C. & Noel, D. Therapeutic application of mesenchymal stem cells in osteoarthritis. *Expert Opin Biol Ther* **16**, 33-42, doi:10.1517/14712598.2016.1093108 (2016).
- 4 Xia, P., Wang, X., Lin, Q. & Li, X. Efficacy of mesenchymal stem cells injection for the management of knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Int Orthop* **39**, 2363-2372, doi:10.1007/s00264-015-2785-8 (2015).
- 5 Bitton, R. The economic burden of osteoarthritis. *The American journal of managed care* **15**, S230-235 (2009).
- 6 Buckwalter, J. A. *et al.* The increasing need for nonoperative treatment of patients with osteoarthritis. *Clinical orthopaedics and related research*, 36-45 (2001).
- 7 Wyld, V., Dieppe, P., Hewlett, S. & Learmonth, I. D. Total knee replacement: is it really an effective procedure for all? *The Knee* **14**, 417-423, doi:10.1016/j.knee.2007.06.001 (2007).
- 8 Mastbergen, S. C., Saris, D. B. & Lafeber, F. P. Functional articular cartilage repair: here, near, or is the best approach not yet clear? *Nature reviews. Rheumatology* **9**, 277-290, doi:10.1038/nrrheum.2013.29 (2013).
- 9 van der Woude, J. A. *et al.* Knee Joint Distraction Compared to Total Knee Arthroplasty for Treatment of End Stage Osteoarthritis: Simulating Long-Term Outcomes and Cost-Effectiveness. *PloS one* **11**, e0155524, doi:10.1371/journal.pone.0155524 (2016).
- 10 van der Woude, J. A. *et al.* Knee joint distraction compared with high tibial osteotomy: a randomized controlled trial. *Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy : official journal of the ESSKA*, doi:10.1007/s00167-016-4131-0 (2016).
- 11 van der Woude, J. A. *et al.* Structural Survival of the Knee Joint Five Years after Joint Distraction. *Osteoarthr Cartilage* **23**, A408-A408 (2015).
- 12 Wiegant, K. *et al.* Evidence of cartilage repair by joint distraction in a canine model of osteoarthritis. *Arthritis & rheumatology* **67**, 465-474, doi:10.1002/art.38906 (2015).
- 13 Wiegant, K. *et al.* Sustained clinical and structural benefit after joint distraction in the treatment of severe knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* **21**, 1660-1667, doi:10.1016/j.joca.2013.08.006 (2013).
- 14 Baboolal, T. G. *et al.* Synovial fluid hyaluronan mediates MSC attachment to cartilage, a potential

novel mechanism contributing to cartilage repair in osteoarthritis using knee joint distraction. *Annals of the rheumatic diseases*, doi:10.1136/annrheumdis-2014-206847 (2015).

15 Intema, F. *et al.* Tissue structure modification in knee osteoarthritis by use of joint distraction: an open 1-year pilot study. *Annals of the rheumatic diseases* **70**, 1441-1446, doi:10.1136/ard.2010.142364 (2011).

16 Mastbergen, S. C. *et al.* The canine 'groove' model of osteoarthritis is more than simply the expression of surgically applied damage. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* **14**, 39-46, doi:10.1016/j.joca.2004.07.009 (2006).

17 Intema, F. *et al.* In early OA, thinning of the subchondral plate is directly related to cartilage damage: results from a canine ACLT-meniscectomy model. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* **18**, 691-698, doi:10.1016/j.joca.2010.01.004 (2010).

18 Bay-Jensen, A. C. *et al.* Osteoarthritis year in review 2015: soluble biomarkers and the BIPED criteria. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* **24**, 9-20, doi:10.1016/j.joca.2015.10.014 (2016).

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

Serial number	Type of animal procedure
1	Groove model (+/- distraction)
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	10800				
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Universiteit Utrecht				
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Volgnummer</th> <th>Type dierproef</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>Groove model +/- distraction</td> </tr> </tbody> </table>	Volgnummer	Type dierproef	1	Groove model +/- distraction
Volgnummer	Type dierproef					
1	Groove model +/- distraction					

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

This "dierproef" document includes *in vivo* work with both experimental dogs and canine patients. Key objectives 1 to 3 are addressed with the aid of experimental dogs, as it is impossible to generate the complete set of read out parameters with canine patients. Key objective 4 is specifically addressed with canine patients.

Experimental dogs

At the initiation of the *in vivo* study, all experimental animals will undergo general clinical and orthopaedic examination and will be subjected to additional radiological imaging if indicated. Osteoarthritis (OA) will be induced according to the well-validated canine Groove model in a bilateral fashion. Specifically for those experiments where the role of MSCs will be studied a small piece of the fat pad will be isolated during this OA induction to obtain autologous fat-pad derived MSCs. Dependent on the question to be addressed, 10 weeks after OA has been induced dogs receive either a distraction frame without (key objectives 1&2) or with an intra-articular injection of autologous MSCs (key objective 3).

Follow-up of animals, after application of the distraction frame, will range between 1 - 10 weeks post-treatment dependent on the specific question addressed. The distraction is removed in all animals the latest 8 weeks after application of the distraction device. For specific objectives (as described in the main proposal) the distraction device may be removed at an earlier time point to address the research question, for example within the first week after application. In the cases with follow-up after distraction, first, the connecting/distracting rod is removed, while the bone pins with frames are left in place. This is done in order to allow a slow return to full loading of the joint. The frames and bone pins will be removed 2 weeks later. Animals will be euthanized at termination of the *in vivo* experiment in order to collect the knee joint for further analysis.

Read out parameters:

In vivo: alongside general clinical and orthopaedic examination and objective gait analysis (force plate) that monitor limb function and joint laxity, additional radiological imaging modalities will be employed to follow up the implant and treated knee joint. Imaging modalities involve radiography to confirm/monitor joint distraction. Furthermore, blood and synovial fluid may be collected in a longitudinal manner for experiments that focus on identification of biomarkers; in the case synovial fluid volume allows also its viscosity will be determined.

Post-mortem: the knee joint will be harvested and further processed for biochemical, biomolecular, biomechanical and/or histopathological evaluation. Subchondral bone will be investigated with the aid of micro-CT imaging.

Canine patients:

As part of standard of care, canine patients with severe OA will be treated with joint distraction and followed up. Collection of synovial fluid, which is not part of the standard care, will be conducted prior to, during, and after the distraction period. Synovial fluid collection is a mild procedure with very low risk for complications: the incidence of septic arthritis following more than 16.000 intra-articular injections in thoroughbred race horses was very low (i.e. 7.8 cases per 10.000 injections)¹. This synovial fluid, together with that of human patients treated for joint distraction, will be used to validate biomarkers identified from the experimental dog studies.

Reference:

1. Steel CM, Pannirselvam RR, Anderson GA. Risk of septic arthritis after intra-articular medication: a study of 16,624 injections in Thoroughbred racehorses. *Aust Vet J* 2013;91;268–273.

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.

All procedures described below will be followed in the in vivo studies with experimental dogs; only synovial fluid collection occurs in both experimental dogs and canine patients.

Acclimatization: in addition to the first week of acclimatisation additional time is needed in order to achieve proper measurements. Here fore, animals will be trained to walk on a leash prior to initiation of the experimental period. This is a procedure with minimal suffering, occurring three times a week, for two – three consecutive weeks. As soon as this has been achieved, the experiment can be initiated.

Clinical examination: general welfare status is evaluated weekly and more often only when indicated (for example, post-operative period). **Orthopaedic examination** (mild procedure): is performed prior to and after application of the distraction device (for example 3, 8, 15, 27 weeks after implantation to determine limb function.

Gait analysis (force plate; mild procedure) is conducted at the same time points as the clinical examination. This technique provides an objective measure of limb function pre- and post-implantation. Gait analysis last approximately 30 min per dog.

Induction of OA (unilateral/bilateral - moderate procedure): under general anaesthesia and proper pain managements, a mini arthrotomy is conducted and OA is induced by making grooves on the femoral condyles (approximately 1 hours, including recovery). Hereby, mild slow progressive OA is induced. This procedure can be performed unilateral and bilateral. We will use bilateral OA induction in the initial experiments (as described) to have "a contralateral OA knee joint" as comparator. With this approach, we will be able to reduce the number of animals employed in a study. Both bilateral as unilateral applications of the model is well-validated and the OA development is comparable to the slow degenerative changes seen with human OA. Unilateral OA induction might be considered in follow-up experiments when for the specific research question the "contralateral healthy knee joint" is needed as comparator.

Distraction of the knee joint (moderate procedure): under general anaesthesia and proper pain managements the distraction frame is applied and distraction is initiated immediately after surgery (approximately 1 hours, including recovery). The distraction frames is composed of bone pins being placed in the proximal and distal bones of the knee joint (i.e. femur and tibia, respectively). These are connected to the distraction frame with the aid of bolts and distraction is applied. This procedure has been shown to have regenerative effects on the long term, but it is unknown what the underlying mechanism is. The latter is the main focus of the current project.



The distraction frame is removed in two phases: first the distraction (connection between the two frames) is removed under sedation (mild procedure). Animals are allowed to move for two weeks before the frames and bone pins are removed under short term anaesthesia (approximately half hour, including recovery, moderate procedure).

Radiographic imaging (mild procedure): is performed maximally once per two weeks after application of the distraction device. For example, in the case of a complete distraction period of 8 weeks, radiographic imaging will be conducted at 2, 4, 6, and 8 weeks after application of the distraction frame and when all bone pins have been removed (i.e. 10 weeks after initial application of the device). Note that the frame is being removed in a two-stage procedure as described in the previous section.

Synovial fluid collection (mild procedure): this procedure is performed in both experimental dogs and canine patients treated with joint distraction. The collection time points will co-inside as much as possible with the other procedures that need to be conducted under sedation/anaesthesia to minimize the number of sedation/anaesthesia per animal. When it does not con-coincide with another procedure, only sedation of the animal is needed.

Synovial fluid in experimental dogs is collected under sedation/anaesthesia (a) prior to induction of OA, (b) after induction of OA and prior to application of the distraction device, (c) at removal of the distraction frame, and (d) at the mid and/or end of the follow up period. Synovial fluid collection, dependent on the study design and specific question addressed with vary between 3 and 5 times per animal.

Synovial fluid from canine patients is collected under sedation/anaesthesia (a) prior to treatment, (b) during distraction (halfway, one time point), (c) at removal of the distraction frame, and (d) during the follow up period (a maximum of 4 follow up moments when feasible).

Blood collection (mild procedure): blood is collected by venepuncture at the same time points as described for synovial fluid collection.

MSC intra-articular injection (mild procedure): shortly after application of the distraction frame (i.e. 3-5 days, where applicable) an intra-articular injection of autologous fluorescent micro-sized particles of iron oxide (FMPIO) labelled MSCs will be performed under sedation (10 min per animal).

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

Dependent on the time point to be studied, we will conduct power analysis to calculate the correct number of animals. For this purpose, G*Power 3.1.9.2, ANOVA: Fixed effects, omnibus, one way is employed with an alpha corrected for multiple testing, for example for 4 relevant comparison (two time points, two treatment groups) the alpha will be set at 0.0125. The size effect is estimated based on the expected change based on historical data with the same animal model and extrapolation to the time point to be studied. Dependent on the primary read out parameter of the respective research question effect sizes vary between 1.5-3. After correcting for multiple testing, the expected power is set at 0.85-0.9 to calculate the proper number of animals. As such a minimum of 6 to 8 animals per group is expected to be needed.

B. De dieren

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

A systematic search has been performed to screen for publications concerning the same research questions. There is experimental work being conducted with the rat model and knee joint distraction. Nonetheless this small animal model is still limited by limited availability of tissue material for multiple concomitant analysis and the absence of a comparable biomechanical environment. In addition the composition of cartilage is less compatible to human cartilage in comparison the canine cartilage.

The canine species is considered to be a suitable model to study intrinsic cartilage repair. Like humans, dogs suffer from OA and there are well described and validated canine models for OA, including the Groove model employed in this project. The dog serves as a preclinical model for humans, while it serves also the veterinary patient. Young adult mixed breed dogs are suitable for this purpose and have been employed in the past including knee joint distraction, providing for a solid base of data.

Marshall laboratories provide a variety of mixed breed mongrels and hounds. These animals are considered middle to large sized dogs and have a size that corresponds with the canine patients population suffering most from OA and the external fixator involved in joint distraction fits properly. The maintained breeding colonies are quite uniform and could be compared with outbred mice breeding colonies. When selecting animals we take body conformation and body weight into consideration. Body weights are in the range of 20 - 35 kg.

Animals are ordered at Harlan or Marshall laboratories dependent on the availability and the age. Gender is not an important predictive factor and as such, we will employ either male or female dependent on their availability. In any case, when relevant, sexes will be equally distributed between the different follow-up groups.

Taking into consideration all the objectives described in this project we estimate to use maximally 56 experimental dogs and 20 canine patients in the period of 2017-2022. The total number is calculated as follows:

- Key objective 1-2 (delineate the intermediate and long term transcriptional response that mediates intrinsic cartilage repair initiated by joint distraction), 2 time points (i.e. intermediate and long term follow up, figure 2 of main proposal), each 8 dogs, **total of 16 dogs**
- Key objective 3 (delineate how distraction enables MSC-mediated cartilage regeneration, Figure 3 of main proposal), 3 time points, each 8 dogs, **total of 24 dogs**.
- Key objective 4 (validate identified targets and cells in synovial fluid of OA human patients and OA canine joints who underwent knee joint distraction), **20 canine patients**. Our experience in existing studies is that substantial changes are seen in synovial fluid after knee joint injury in humans, suggesting that conclusions can be made from relatively small groups of 20 patients.

Depending on the outcome additional experiments with experimental dogs may have to be performed to further define additional parameters that may arise from the experiments as described for key objective 1, 2, and 3. As such an additional **16 experimental animals** are included in the total number requested (a total of two additional in vivo experiments).

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

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

Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

keuzes daarbij zijn gemaakt.

To reduce the amount of animals needed for this study, prior to this *in vivo* study multiple *ex vivo* and *in vitro* studies were conducted to further understand the underlying regenerative mechanisms of distraction. In parallel a whole joint –bio-mechano-reactor (BMR) is being developed to study effects on OA development and treatment including joint distraction by culturing a whole (canine) knee joint allowing for controlled modulation of biochemical and biomechanical conditions. With this BMR it is anticipated that parameters of interest can be monitored and modulated longitudinally in a physiologically representative configuration. However, this set-up is currently in development and a first prototype has been developed. This prototype is currently used for further optimization and validation of the BMR and its applicability in daily practice. As such it is anticipated that in the given time-frame the BMR cannot be employed yet as an alternative or step before the proposed *in vivo* studies.

Moreover, the *in vivo* studies described cannot be replaced with simple *in vitro* models or explant tissue cultures given that we need to translate the treatment strategies not only in a single tissue-context but also in a multiple tissue and disease dependent-context where multiple signalling pathways are deranged. Furthermore, the biomechanical environment of osteoarthritis and the temporary joint distraction is currently far too complex to simply imitate in a petri dish or in a more complex bioreactor settings. Prior to the termination of each study we notify a wide network of researchers. They can indicate what type of material they would like to collect to facilitate their own research and when compatible with our needs, this material is provided to them.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Animals are allowed to accommodate to their new environment for at least 1 week, they are housed in groups, and only housed separately for one week post-treatment (twice during the whole experimental period) in order to prevent possible wound healing complications. Furthermore, animals are given toys as enrichment. This enrichment is withheld from the animals only immediately after induction of OA and surgical implantation of the distraction device. During the direct-post-operative period animal handling is limited to the necessary handling in relation to health and pain management. Animals are daily allowed to be for at least one hour outside their wards in order to play.

Note: it is possible to house 2-3 dogs in a group

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

Not relevant to the proposal

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

In principle they are housed in groups, and only housed separately (twice) for one week post-treatment in order to prevent possible wound healing complications. The side effects of a wound infection outweigh the consequences of individual housing for the maximal period of 1 week post-operatively.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

Pain management is done with proper intra-operative pain medication administered with continuous intravenous infusion based on protocols set up in collaboration of certified anesthesiologist. Pain medication is only needed in the direct post-operative period of maximal 7 days. Initial pain medication will consist on the use of specific NSAIDs and if necessary those will be combined with opioids. Pain management is evaluated on a daily basis in the direct post-operative period based on performance and wellbeing of the animals.

Pain medication may have a temporary anti-inflammatory (or direct effect on cartilage) effect on the process of OA, but given that it is given in all animals and in principal for a short period (days), it is anticipated that this does not interfere with the comparisons. Furthermore, it reflects clinical practice, as also patients receiving joint distraction receive also (short term) pain management.

In order to provide a complete overview of all procedure, their respective "ongerief" and the measures taken to address this, we have included a table below.

Procedure	Duration	"Ongerief"	Measures to diminish "ongerief"
Acclimatization, followed by housing	1 week	mild	None other than according to the guidelines, housed in groups (2-3 dogs per group), toys as enrichment, Animals are daily allowed to be for at least one hour outside their wards in order to play.
Training for the force plate	three times a week, for two – three consecutive weeks	mild	trained to walk on a leash, receive appreciation by dog cookies
Clinical examination	Weekly	mild	More often than weekly only when indicated
Orthopaedic examination	prior to and after application of the distraction device	mild	Only when indicated
Gait analysis	30 min / analysis	mild	none
Induction OA	1 hour, including recovery	moderate	Pain management as described in section H only housed separately (twice) for one week
Distraction of the	1 hour, including	moderate	post-treatment in order to prevent possible

knee joint	recovery		wound healing complications The toy enrichment is withheld from the animals only immediately after induction of OA and surgical implantation of the distraction device. During the direct-post-operative period animal handling is limited to the necessary handling in relation to health and pain management.
Removal of the distraction device	Is done in two phases within 2 weeks, each 30 minutes	1 st phase – mild (removal distraction) 2 nd phase – moderate (removal bone pins)	Pain management as described in section H
Radiography	Once per two weeks during distraction period, 5 minutes each	mild	Animals will be checked by "C-boog" during loading of the joints (standing) to check for distraction in the joint which don't need sedation and takes <5 min.
Synovial fluid collection	3-5 times max per animal, 10 min	mild	The collection time points will coincide as much as possible with the other procedures that need to be conducted under sedation/anaesthesia to minimize the number of sedation/anaesthesia per animal. When it does not coincide with another procedure, only sedation of the animal is needed.
Blood collection	3-5 times max per animal	mild	
MSC intra-articular injection	Once per animal, 10 min	mild	

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Lameness (related to pain) of the hind limb inherent to the animal model.

Anesthesia related to surgery of synovial fluid collection may result into mild discomfort.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Anesthesia is a slight uncomfortable procedure

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

Certified and experienced personnel induces OA and places the distraction device. Follow up of the animals is also done with experienced veterinarians to ensure proper notice of clinical signs.

Protocols of anesthesia are prepared under the supervision of a board certified anesthesiologist to guarantee a fitting protocol to each individual procedure that needs to be done under anesthesia and will be done in close collaboration with certified and experienced biotechnicians

J. Humane eindpunten

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

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Evaluation of pain is based on the Glasgow composite measure pain scale (reviewed by Sharkey M, 2013) and is combined with the lameness score. If general clinical signs are observed indicating severe discomfort animals are euthanized.

Humane endpoints include: Severe lameness (grade 4 out of 4) that is unresponsive to pain medication. The grading scheme of lameness is as follows:

Grade 0: no lameness when walking

Grade 1: mild lameness (sound at walk, but weight shifting and mild lameness noted at trot)

Grade 2: obvious lameness when walking, weight-bearing shift with distinct "head bob", i.e. for example head lifting when the lame limb hits the ground and head nodding when the opposite healthy limb hits the ground

Grade 3: marked lameness when walking

Grade 4: three-legged lameness when walking (too-touching to non-weight bearing lameness)

- Sharkey M. The challenges of assessing osteoarthritis and postoperative pain in dogs. AAPS J. 2013 Apr;15(2):598-607. doi: 10.1208/s12248-013-9467-5.

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

< 2%

Based on the previous experiments with knee joint distraction none of the animals will reach the state of severe lameness. In case of synovial fluid sampling or MSC injection a small risk of intra-articular infection is present. However, this has never occurred in previous studies. Nonetheless, if such an infection or severe lameness is noticed the animal will be taken out of the experiment and treated accordingly and if necessary terminated.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

98% matig; 2% ernstig

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee

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

Only experimental dogs are euthanized in order to collect post-mortem information at the biomolecular, biochemical, and histopathological level

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer : 2017.I.813.017
2. Titel van het project : Exploring cartilage regeneration due to joint distraction in the dog
3. Titel van de NTS : Wat maakt gewrichtsdistractie zo succesvol in het herstellen van artrose?

4. Type aanvraag:

- nieuwe aanvraag projectvergunning
 wijziging van vergunning met nummer :

5. Contactgegevens DEC

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

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

- ontvangen door DEC: 28-08-2017
 aanvraag compleet:
 in vergadering besproken: 06-09-2017
 anderszins behandeld:
 termijnonderbreking(en) van / tot : 12-09-2017/02-10-2017
 besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
 aanpassing aanvraag:
 advies aan CCD: 01-11-2017

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

8. Eventueel horen van aanvrager

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

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum vragen: 12-09-2017
- Datum antwoord: 02-10-2017
- Gestelde vragen en antwoorden:

Projectvoorstel

- 3.4 Onderzoeksstrategie: De DEC vraagt zich af of het mogelijk is het totale aantal experimenten te reduceren door de experimenten uit figuur 2 en 3 deels in elkaar te schuiven. Men zou wellicht groep C2 uit figuur 3 als extra groep (n=8) toe kunnen voegen aan het experiment uit figuur 2. Wanneer mocht blijken dat een injectie met stamcellen geen positief effect heeft op het herstel van kraakbeen na distractie, dan zou het experiment met de groepen A1 t/m C1 achterwege kunnen blijven. Dit zou het aantal proefdieren aanzienlijk reduceren. Graag uw visie.

We have considered the possibility of combining experiments and based on the arguments as stated below we propose to keep the study design as described in the submitted proposal. Indeed there seems to be overall similarity between the control groups of the experiments described in Figure 2 and figure 3, namely the group C1. However, the read-out parameters and subsequently handling of the tissues for these two sets of experiments differ as they address separate questions. In key objectives 1 & 2 (experiment described in Figure 2) we concentrate on the transcriptome of cartilage and need all the cartilage available to be able to perform all read out parameters including next generation sequencing, GAG incorporation and synthesis, histology. In key objective 3 we address the presence of MSCs injected with the aid of imaging techniques and FACS analysis and employ the whole joint for this purpose. It is technically impossible to combine this with the read-out parameters from key objective 1&2, as tissue processing between these two experimental set up differs. Even more so, by only employing part of the cartilage for detection of the MSCs, we will have results that are not representative for the whole joint, as MSCs may home to specific locations. As such, by combining the experiments and limiting the number of animals by 8 we compromise the quality of the results of each experiment and therefore we keep the original design.

- 3.4 Onderzoeksstrategie: De DEC vraagt zich ook af of u heeft overwogen naast de genoemde parameters ook de viscositeit en elasticiteit van de synoviale vloeistof te bepalen, evenals ontstekingsparameters (o.a. de hoeveelheid witte bloedcellen). Dergelijke uitleesparameters zouden bij kunnen dragen aan het behalen van de doelstelling. Graag uw reactie.

Viscosity of the synovial fluid is indeed a relevant parameter that indicates the lubricating capacity and the health state of the fluid itself. However, the present project focusses on other aspects that are influenced by joint distraction, including (a) the catabolic/anabolic state of the joint and (b) the involvement of MSCs. There is evidence that MSCs are present within the synovial fluid, their numbers increase during OA, it is yet unknown how joint distraction influences their numbers and homing capacities. As such, we will employ synovial fluid to perform extensive biomarkers analysis and we will isolate MSCs from the synovial fluid to study their profile and behavior characteristics during distraction. From a healthy knee joint, as little as 0,5 ml synovial fluid can be collected, while the volume increases with severity of OA. As such, we have to prioritize the read-out parameters based on the working hypothesis and research questions addressed by the project. Viscosity is

measured based on the string test and will only be measured with the aid of dedicated instruments if the volume of the synovial fluid allows for this.

We have included the viscosity as a secondary read out parameters in "beschrijving dierproeven" in section A.

Bijlage 1

- Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: De DEC raadt u aan de poweranalyse niet zo gedetailleerd weer te geven. Hier wordt slechts gevraagd naar de statistische methode, niet naar de berekening. U zou kunnen volstaan met een zin in de trant van: *'Met een groep van 8 dieren halen we met een effectsize van ... een power van ...'*. *The power analysis has been adjusted as suggested.*
*Dependent on the time point to be studied, we will conduct power analysis to calculate the correct number of animals. For this purpose, G*Power 3.1.9.2, ANOVA: Fixed effects, omnibus, one way is employed with an alpha corrected for multiple testing, for example for 4 relevant comparison (two time points, two treatment groups) the alpha will be set at 0.0125. The size effect is estimated based on the expected change based on historical data with the same animal model and extrapolation to the time point to be studied. Dependent on the primary read out parameter of the respective research question effect sizes vary between 1.5-3. After correcting for multiple testing, the expected power is set at 0.85-0.9 to calculate the proper number of animals. As such a minimum of 6 to 8 animals per group is expected to be needed.*
- B. De dieren: De berekening van het totale aantal dieren bij punt B komt niet overeen met de berekening in de NTS. De DEC vermoedt dat de berekening in de NTS correct is, en dat het getal 50 bij punt B (aangegeven in het groen) niet klopt. De DEC verzoekt u deze inconsistentie op te heffen en de berekening waar nodig aan te passen.
Indeed, the NTW contained the correct number of animals. This is now also correctly adjusted in this section.
- B. De dieren: De DEC vraagt zich af waarom u er niet voor gekozen heeft het onderzoek met één bepaald hondenras uit te voeren. Dit zou de variatie tussen dieren verminderen. Ook is het voor de DEC niet duidelijk of selectie op basis van gewicht plaatsvindt. Wellicht heeft u in het verleden al over dit punt met de DEC gecorrespondeerd, maar voor DEC (en de CCD) is het voor de toetsing van de voorliggende projectaanvraag van belang om (opnieuw) over deze informatie te beschikken.
Marshall laboratories provide a variety of mixed breed mongrels and hounds. These animals are considered middle to large sized dogs and have a size that corresponds with the canine patients population suffering most from OA. The maintained breeding colonies are quite uniform and could be compared with outbreed mice breeding colonies. Indeed when selecting animals we take body conformation and body weight into consideration. Body weights are in the range of 20 – 35 kg. We specifically do not work with the Beagle as an experimental animal as it carries chondrodystrophy and may have a different joint cartilage balance compared to non chondrodystrophic dogs. Furthermore, specifically for the

“distraction” topic, the body composition of the Beagle dog (relatively short legs compared to Mongel) is not ideal for application of the external fixator that distracts the joint.

- D. Vervanging, vermindering en verfijning: De DEC stelt het zeer op prijs dat u een alternatief aan het ontwikkelen bent. In de tekst zou u echter duidelijker aan kunnen geven welk werk tot nu toe verricht is, hoe ver u bent met de ontwikkeling, en dat de toepassing van het model niet binnen de looptijd van het project realiseerbaar is. Dit om voor de hand liggende vragen van de kant van de CCD te vermijden.

In parallel a whole joint –bio-mechano-reactor (BMR) is being developed to study effects on OA development and treatment including joint distraction by culturing a whole (canine) knee joint allowing for controlled modulation of biochemical and biomechanical conditions. With this BMR it is anticipated that parameters of interest can be monitored and modulated longitudinally in a physiologically representative configuration. However, this set-up is currently in development and a first prototype has been developed. This prototype is currently used for further optimization and validation of the BMR and its applicability in daily practice. As such it is anticipated that in the given time-frame the BMR cannot be employed yet as an alternative or step before the proposed in vivo studies.

- J. Humane eindpunten: De DEC zou graag een beeld krijgen van het verloop van het ongerief gedurende het experiment. In welk stadium is welk ongerief te verwachten, en welke maatregelen worden getroffen? Daarnaast is de DEC van mening dat de verschijnselen bij Grade 4 (lopen op 3 poten) niet per definitie aangeven dat een hond ernstig ongerief ondervindt (en derhalve vanwege dit ernstige ongerief uit het experiment genomen moet worden). Wellicht kunt u aanvullende criteria formuleren die wijzen op ernstig ongerief (zoals tekenen van pijn en/of ontsteking)? Graag uw reactie.

The different procedures that the animals are subjected to, including the amount of “ongerief” are in detail described in section A. In order to address the remark raised by the DEC committee we have included a table in section H. When evaluating a dog clinically we also assess the pain level based on the Glasgow composite score. When stating lameness, we meant lameness due to pain. This is now clarified in section J.

- L: Wijze van doden: De DEC verzoekt u hier aan te geven dat patiënten niet gedood zullen worden.

This is clarified now in section L.

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

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

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

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Er zijn geen DEC-leden betrokken bij het betreffende project.

C. Beoordeling (inhoud):

1. De aanvraag is toetsbaar en heeft voldoende samenhang.

Artrose is een veelvoorkomende gewrichtsaandoening die gepaard gaat met pijn en bewegingsbeperkingen. Artrose heeft daardoor een grote invloed op de levenskwaliteit van patiënten. Het is mogelijk om met therapeutisch ingrijpen het ziekteproces te vertragen en pijn te verminderen, maar beschadigd kraakbeen kan slechts in zeer beperkte mate functioneel herstellen. Althans, dat is de algemeen geldende opvatting. In een vergevorderd stadium van artrose, wanneer de patiënt veel pijn heeft en/of niet meer kan lopen, wordt een gewricht doorgaans vervangen door een prothese. Omdat de levensduur van een kunstgewricht ongeveer 15 tot 20 jaar is is vervanging van een prothese bij patiënten jonger dan 60 jaar op den duur onvermijdelijk. Deze zogenaamde revisie is zeer complex en kent een slechte uitkomst. Recentelijk is een alternatieve behandelmethodede ontwikkeld: de zogenaamde distractietechniek. Deze behandelmethodede, waarbij twee delen van een (knie)gewricht tijdelijk uit elkaar worden gehouden met behulp van een frame, heeft goede resultaten laten zien. De pijnklachten en bewegingsbeperkingen van de behandelde patiënten namen af, en er waren duidelijke aanwijzingen dat het kraakbeen herstelde – iets wat lange tijd voor onmogelijk werd gehouden. Het is nog onduidelijk welke mechanismen aan deze effecten ten grondslag liggen. Daarom wil de aanvrager met behulp van het voorliggende project de hierboven geschetste veelbelovende resultaten nader onderzoeken. Aan de hand van vier subdoelen zullen met behulp van een hondenmodel de onderliggende mechanismen van gewrichtsdistractie in kaart gebracht worden.

De relatie tussen het hoofddoel en de vier subdoelen komt in grote lijnen overeen met voorbeeld 4B uit de 'Handreiking Invulling Definitie Project', maar de subdoelen zijn niet geheel onafhankelijk van elkaar. De wijze waarop de vier subdoelen met elkaar verweven zijn is door de aanvrager helder toegelicht in de projectaanvraag. Per subdoel is duidelijk welke handelingen de individuele dieren zullen ondergaan en welke mate ongerief deze handelingen tot gevolg hebben. Dit alles in ogenschouw nemend is de DEC van mening dat de voorliggende aanvraag als een toetsbaar en haalbaar project beschouwd dient te worden – ook al voldoet de opbouw van het project niet exact aan de kenmerken die onder 4B in de handreiking beschreven worden.

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 sluiten aan bij de hoofddoelstelling.

Belangen en waarden

4. Het directe doel van het project is met behulp van een hondenmodel in kaart te brengen welke mechanismen ten grondslag liggen aan de positieve effecten van gewrichtsdistractie op herstel van artrotisch kraakbeen. Het uiteindelijke doel van het project is bij te dragen aan de ontwikkeling van verbeterde en nieuwe behandelmethoden voor patiënten (zowel honden als mensen) met artrose. Wanneer het directe doel behaald wordt, dan zal dit project de werkzaamheid van gewrichtsdistractie aantonen en de onderliggende hypothese staven (korte termijn) en waardevolle aanknopingspunten bieden voor nieuwe en verbeterde behandelstrategieën voor verschillende stadia van artrose (lange termijn). De DEC is van mening dat er in voldoende mate een relatie is tussen het directe doel en het uiteindelijke doel. Daarnaast is het directe doel gerechtvaardigd – en vernieuwend – in de context van het onderzoeksveld.

5. De belangrijkste belanghebbenden in dit onderzoeksproject zijn: de proefdieren, de doelgroep (patiënten met artrose, zowel honden als mensen) en het onderzoeksveld. De morele waarden die voor de proefdieren in het geding zijn: welzijn en hun intrinsieke waarde. De dieren kunnen als gevolg van de experimentele handelingen stress en pijn ervaren. De intrinsieke waarde van de dieren wordt aangetast door het feit dat ze als proefdieren ingezet worden – dit staat nog los van de handelingen die ze zullen ondergaan. Daarnaast is in dit project ook sprake van aantasting van de integriteit van de dieren (zie C12). De morele waarden die voor de doelgroep worden bevorderd zijn: welzijn en rechtvaardigheid. De patiënten (en de betrokkenen/eigenaren) hebben baat bij het mogelijk beschikbaar komen van verbeterde en nieuwe behandelstrategieën die ontwikkeld kunnen worden met behulp van uit dit project voortkomende kennis. De morele waarden die voor het onderzoeksveld worden bevorderd zijn: welzijn. Het onderzoeksveld is gebaat bij het publiceren van nieuwe wetenschappelijke inzichten. Voor dit project is dit zeker van toepassing, omdat lange tijd gedacht werd dat kraakbeen geen regeneratief vermogen heeft. Wanneer met resultaten uit dit project aangetoond kan worden dat dit wél het geval is, dan opent dit geheel nieuwe perspectieven voor het onderzoeksveld (en daarmee in de toekomst ook voor patiënten). Het is mogelijk dat de onderzoekers het publiceren van de nieuwe wetenschappelijk inzichten voortkomend uit dit project van belang achten voor hun eigen carrière, maar voor de DEC speelt dit geen rol bij het maken van de ethische afweging over de toelaatbaarheid van het gebruik van de proefdieren.

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 onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn voldoende gewaarborgd en dragen eraan bij dat de doelstellingen behaald kunnen worden, dat aan de 3V-beginselen voldaan kan worden en dat voorkomen kan worden dat mens, dier en milieu onnodige negatieve effecten ondervinden als gevolg van de dierproeven. De DEC is van

mening dat het projectvoorstel aansluit bij recente inzichten (dit is door de aanvrager helder uiteengezet) en dat het geen belangrijke hiaten bevat die de bruikbaarheid van de resultaten beperken. De uitgebreide ervaring met het beschreven hondenmodel en de beschikking over patiënten (honden) dragen in sterke mate bij aan de haalbaarheid van het voorliggende project.

8. Het project is goed opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters sluiten logisch en helderaan bij de aangegeven doelstellingen en de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. In de aanvraag is duidelijk uiteengezet met behulp van welke onderzoeksstappen en – technieken de onderzoeksvragen behorende bij de vier subdoelen beantwoord zullen worden. De DEC is van mening dat de vier subdoelen logisch met elkaar samenhangen en terecht onderdeel zijn van een en hetzelfde project, omdat zij samen een goed beeld schetsen van de mechanismen die ten grondslag liggen aan de positieve effecten van gewrichtsdistractie op herstel van artrotisch kraakbeen. De ratio, samenhang en fasering van de verschillende experimenten zijn duidelijk toegelicht (zowel in de aanvraag als in reactie op vragen van de DEC). Ook is goed onderbouwd op welke momenten wel/geen sprake is van een go/no-go moment en welke experimenten daarom parallel aan elkaar uitgevoerd kunnen worden. De DEC waardeert het dat de bevindingen uit de experimenten met de aangekochte honden (subdoelen 1 t/m 3) gevalideerd worden met behulp van ex vivo experimenten met synoviale vloeistof afkomstig van patiënten (zowel veterinaire als humane) die een gewrichtsdistractie hebben ondergaan.

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 niet gedurende het gehele experiment gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de EU richtlijn. De honden worden na elk van de twee operatieve ingrepen (na de inductie van artrose en na het plaatsen van het distractieframe) gedurende maximaal een week solitair gehuisvest om wondinfectie te voorkomen.

11. Het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. In de aanvraag is met behulp van een tabel inzichtelijk gemaakt welke mate van ongerief de verschillende experimentele handelingen tot gevolg hebben, en op welke wijze getracht wordt dit ongerief te minimaliseren. Nagenoeg alle honden (98% van de dieren) ervaren matig ongerief ten gevolge van de geïnduceerde artrose, het aangebrachte distractieframe en de herhaaldelijke anesthesie die nodig is voor verschillende ingrepen aan de kniegewrichten (zoals het afnemen van synoviale vloeistof en injectie van stamcellen). Mochten zich onverhoopt complicaties voordoen (bijvoorbeeld een infectie van een kniegewricht en/of ernstige kreupelheid) dan is sprake van ernstig ongerief. Dit heeft zich in het verleden met experimenten van vergelijkbare opzet niet voorgedaan, maar men houdt er voor de zekerheid rekening mee dat dergelijke complicaties bij maximaal 2% van de honden kunnen optreden.
12. De integriteit van de dieren wordt fysiek aangetast door het induceren van artrose in beide kniegewrichten en door het plaatsen van een distractieframe. De ervaring leert weliswaar dat de honden relatief weinig hinder ondervinden van de geïnduceerde artrose en het distractieframe, en dat ze gedurende het gehele experiment in voldoende mate mobiel blijven, maar de heelheid en gaafheid van de dieren wordt door deze ingrepen wel aangetast.
13. De humane eindpunten zijn in de bijlage dierproeven goed gedefinieerd en het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt bereikt is goed ingeschat. De onderzoekers maken gebruik van verschillende criteria, waaronder een scoringsysteem voor pijn en een scoringsysteem voor kreupelheid. De DEC waardeert deze aanpak, omdat het onderscheid tussen pijn en kreupelheid een genuanceerder beeld schetst van de situatie van een hond met betrekking tot het ongerief. Men houdt er rekening mee dat maximaal 2% van de dieren op grond van onverwachte complicaties voortijdig uit het experiment genomen moet worden (zie ook C11).

3V's

14. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Daar waar mogelijk heeft relevant vooronderzoek plaatsgevonden met behulp van ex vivo en in vitro experimenten. Maar om de onderliggende regeneratieve mechanismen na gewrichtsdistractie goed in kaart te kunnen brengen blijft onderzoek in levende dieren als vervolgstap voorsnog noodzakelijk. De bestaande in vitro en ex vivo modellen geven slechts een gesimplificeerde weergave van de werkelijkheid, omdat biochemische en biomechanische interacties tussen verschillende weefsels die een rol spelen bij de ontwikkeling van artrose en de effecten van gewrichtsdistractie nog onvoldoende nagebootst kunnen worden. Een model dat mogelijk wél in staat is om dergelijke aspecten na te bootsen is momenteel in ontwikkeling – de zogenaamde 'whole joint bio-mechano-reactor (BMR) – maar het ligt niet in de lijn der verwachting dat de BMR binnen de looptijd van dit project als gevalideerd alternatief ter beschikking komt.

15. Het aantal te gebruiken dieren 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. Bij de schatting van het benodigde aantal dieren is uitgegaan van een groepsgrootte van maximaal 8 honden, omdat uit eerder vergelijkbaar onderzoek is gebleken dat een dergelijke groepsgrootte voldoende groot is om statistisch en biologisch significante verschillen tussen groepen aan te tonen. Voor aanvang van een experiment, wanneer de exacte proefopzet en gekozen tijdstippen bekend zijn, zal een powerberekening uitgevoerd worden om de definitieve benodigde groepsgrootte te bepalen. Het benodigde aantal patiënten is op basis van ervaring geschat op 20 honden.
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. Er worden adequate en op de experimentele handelingen afgestemde anesthesie- en analgesieprotocollen toegepast om ongerief zoveel mogelijk te beperken. Onderdeel van het pijnstillingsprotocol is de toediening van NSAID's gedurende een aantal dagen na een operatieve ingreep. De onderzoekers zijn zich ervan bewust dat de toepassing van NSAID's invloed kan hebben op het artrotische en herstellende kraakbeen, en ze hebben duidelijk beargumenteerd waarom de bruikbaarheid van de resultaten desondanks niet in het geding komt. Ingrepen die onder anesthesie moeten plaatsvinden worden zoveel mogelijk gecombineerd om ongerief ten gevolge van herhaaldelijke anesthesie tot een minimum te reduceren. Het hondenmodel dat gebruikt wordt voor de subdoelen 1 t/m 3 is gevalideerd, heeft in het verleden waardevolle resultaten opgeleverd, en is daarom in de ogen van de DEC zeer geschikt voor het behalen van de doelstelling van dit project. Het kniegewricht van de hond heeft veel overeenkomsten met het kniegewricht van de mens: naast de samenstelling van het kraakbeen en de bouw van het gewricht is ook de mechanische belasting vergelijkbaar – meer dan het geval is bij kleinere proefdieren zoals muizen en ratten. Ook het progressieve verloop van artrose is vergelijkbaar voor mensen en honden (dit geldt zowel voor veterinaire patiënten als voor proefdieren waarbij artrose geïnduceerd is). De bevindingen uit het voorliggende project zullen daarom zowel voor de veterinaire als voor de humane geneeskunde van waarde zijn.
17. Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.
 - *Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef*
18. De aanvrager heeft geen voorkeur voor dieren van een bepaald geslacht. Men is afhankelijk van het aanbod van de leverancier en de kliniek. De dieren van beide geslachten zullen evenredig over de verschillende follow-up groepen verdeeld worden.
19. Een aantal proefdieren wordt in het kader van het project gedood, omdat de doelstelling van het project alleen behaald kan worden wanneer de kniegewrichten van deze honden post mortem op biochemisch, biomoleculair en histopathologisch niveau onderzocht kunnen

worden. Uiteraard worden alleen de proefdieren die zijn aangekocht voor het project na afloop van het experiment gedood. De patiënten die tijdelijk ter beschikking worden gesteld aan de onderzoekers keren na afloop van de experimentele behandeling terug naar hun eigenaar. Daar waar van toepassing worden de dieren in overeenstemming met bijlage IV van de EU-richtlijn op een passende wijze gedood.

20. De vraag over hergebruik is niet van toepassing omdat de aangekochte proefdieren gedood worden in het kader van het experiment en de patiënten terugkeren naar hun eigenaren.

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: rechtvaardigt het belang van het voorliggende onderzoek, dat tot doel heeft de mechanismen in kaart te brengen die ten grondslag liggen aan de positieve effecten van gewrichtsdistractie op herstel van artrotisch kraakbeen, de onvermijdelijke aantasting van het welzijn en de integriteit van de gebruikte proefdieren?
2. Er vindt een aanzienlijke aantasting van het welzijn en de integriteit van de proefdieren plaats, met matig (en in uitzonderlijke gevallen ernstig) ongerief tot gevolg. Indien de hierboven genoemde doelstelling behaald wordt, dan zal dit project eraan bijdragen dat de werkzaamheid van gewrichtsdistractie en de onderliggende hypothese erkend worden. Met behulp van deze resultaten kan de gewrichtsdistractiebehandeling geoptimaliseerd en voor een bredere groep patiënten toegankelijk gemaakt kan worden. De DEC kent hier veel gewicht aan toe. Patiënten en directe betrokkenen zouden hier zeer bij gebaat zijn, omdat de huidige behandelmogelijkheden symptomatisch, ingrijpend en op de lange termijn onvoldoende effectief zijn. Het is aannemelijk dat de fundamentele en translationele 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. Dat het voor de individuele onderzoeker van belang kan zijn om aansprekende onderzoeksresultaten te boeken is juist, maar in de afweging van de DEC speelt dit geen rol van betekenis.
3. De DEC is overtuigd van het belang van het doel: het in kaart brengen van de mechanismen die ten grondslag liggen aan de positieve effecten van gewrichtsdistractie op herstel van artrotisch kraakbeen. De DEC is van mening dat dit doel een substantieel belang vertegenwoordigt en dat dit substantiële belang opweegt tegen de aanzienlijke aantasting van het welzijn en de integriteit van de proefdieren. De commissie is overtuigd van de kwaliteit van het werk van de aanvrager. Het project is goed opgezet, de verschillende onderzoeksvragen zijn terecht

ondergebracht in één project, en het is aannemelijk dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van het doel binnen het kader van het project. Aangezien gewrichtsdistractie reeds bij zowel veterinaire als humane patiënten wordt toegepast voor de behandeling van artrose is het in de ogen van de DEC reëel dat de resultaten uit dit project op korte termijn bij kunnen dragen aan de onderbouwing en optimalisatie van gewrichtsdistractiebehandelingen van patiënten. Volgens de DEC is het ook reëel dat de resultaten waardevolle aanknopingspunten bieden voor verdergaan onderzoek naar het regeneratieve vermogen van kraakbeen en nieuwe behandelstrategieën voor verschillende stadia van artrose. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat men binnen de looptijd van het project (nog) niet over geschikte vervangingsalternatieven zal kunnen beschikken. De DEC waardeert het zeer dat parallel aan dit project wel gewerkt wordt aan een dergelijk alternatief. De aanvrager heeft in een reactie op vragen van de DEC goed onderbouwd waarom het doel niet met een andere experimentele opzet en minder dieren behaald kan worden. De DEC is ervan overtuigd dat de gebruikte aanpak de meest verfijnde is, en dat voorkomen zal worden dat mens, dier en milieu onnodige negatieve effecten ondervinden als gevolg van de dierproeven. Op grond van het bovenstaande is de DEC van oordeel dat het gebruik van de proefdieren zoals beschreven in de aanvraag gerechtvaardigd is.

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



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht

Postbus 80125

3508 TC UTRECHT



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

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD1080020173964
Bijlagen
2

Datum 13 november 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 7 november 2017. Het gaat om uw project "Exploring cartilage regeneration due to joint distraction in the dog". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD1080020173964. 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. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Datum:

13 november 2017

Aanvraagnummer:

AVD1080020173964

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:
13 november 2017
Aanvraagnummer:
AVD1080020173964

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 10800
Naam instelling of organisatie: Universiteit Utrecht
Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde: [REDACTED]
Postbus: 80125
Postcode en plaats: 3508 TC UTRECHT

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: UHD
Afdeling: Faculteit Diergeneeskunde
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: UHD
Afdeling: Universitair Medisch Centrum Utrecht
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

Datum:

13 november 2017

Aanvraagnummer:

AVO080020173964

Over uw project

Geplande startdatum:

10 januari 2018

Geplande einddatum:

9 januari 2023

Titel project:

Exploring cartilage regeneration due to joint distraction in the dog

Titel niet-technische samenvatting:

Wat maakt gewrichtsdistractie zo succesvol in het herstellen van artrose?

Naam DEC:

DEC Utrecht

Postadres DEC:

Postbus 85500 3508 GA Utrecht

E-mailadres DEC:

dec-utrecht@umcutrecht.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen:

€ 1.035,-

De leges voldoet u:

na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen:

- Projectvoorstel
 Beschrijving Dierproeven
 Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen:

 DEC-advies**Ondertekening**

Naam:

[Redacted]

Functie:

[Redacted]

Plaats:

Utrecht

Datum:

7 november 2017



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UU-ASC

Postbus 80.011

3508 TA UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

centralecommissiedierproeven.nl

0900 28 000 28 (10 ct/min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD1080020173964

Bijlagen

2

Datum 13 november 2017

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 13 november 2017

Vervaldatum: 13 december 2017

Factuurnummer: 173964

Ordernummer: o.v.v. CB.841910.3.01.011

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD1080020173964	€ 1.035,00

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



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht

[REDACTED]

Postbus 80125

3508 TC UTRECHT



Centrale Commissie
Dierproeven

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

centralecommissiedierproeven.nl

0900 28 000 28 (10 ct/min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD1080020173964

Bijlagen

1

Datum 11 december 2017

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 7 november 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Exploring cartilage regeneration due to joint distraction in the dog" met aanvraagnummer AVD1080020173964. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a lid 1 van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet).

U kunt met uw project starten. De vergunning wordt afgegeven van 10 januari 2018 tot en met 9 januari 2023.

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

Procedure

Advies dierexperimentencommissie

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie (DEC) DEC Utrecht gevoegd. Dit advies is ontvangen op 7 november 2017. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a lid 3 van de wet. Het advies van de DEC is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

Overwegingen

Alle hierboven genoemde stukken liggen ten grondslag aan ons besluit.

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

Datum:
11 december 2017
Aanvraagnummer:
AVD1080020173964

Beoordeling achteraf

Na afloop van het project zal er een beoordeling plaatsvinden, zoals bedoeld in artikel 10a1 lid 1 sub d en artikel 10a1 lid 3 van de wet. De reden van deze beoordeling achteraf is dat in dit project dieren ernstig ongerief ondergaan. Deze beoordeling zal uiterlijk januari 2024 plaatsvinden. Meer informatie over de eisen die gesteld worden bij de beoordeling achteraf vindt u in de bijlage 'Weergave wet- en regelgeving'.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen. Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

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

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

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

Meer informatie

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

Datum:

11 december 2017

Aanvraagnummer:

AVD1080020173964

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:



Algemeen Secretaris

Bijlagen:

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



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Universiteit Utrecht
Adres: Postbus 80125
Postcode en plaats: 3508 TC UTRECHT
Deelnemersnummer: 10800

deze projectvergunning voor het tijdvak 10 januari 2018 tot en met 9 januari 2023, voor het project "Exploring cartilage regeneration due to joint distraction in the dog" met aanvraagnummer AVD1080020173964, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC Utrecht. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is UHD.

Het besluit is gebaseerd op de volgende (aangepaste) stukken:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 7 november 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 7 november 2017;
 - b Bijlagen dierproeven
 - 3.4.4.1 Groove model +/- distraction, zoals ontvangen op 7 november 2017;
 - c Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 7 november 2017;
 - d Advies van Dierexperimentencommissie zoals ontvangen op 7 november 2017.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst
3.4.4.1 Groove model +/- distraction			
	Honden (Canis familiaris)	56	2,0% Ernstig 98,0% Matig

Voorwaarden

Beoordeling achteraf

In dit project worden dierproeven toegepast die vallen in de categorie ernstig volgens artikel 10b van de wet en wordt daarom voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk januari 2024 plaatsvinden. Er zal dan beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt. Daarnaast wordt bekeken of de schade die de dieren hebben ondervonden, het aantal en soorten proefdieren en de ernst de dierproeven conform de vergunning waren.

Ter informatie

Onderstaande informatie is opgenomen op grond van artikel 1d lid 4, artikel 10a1 lid 2, artikel 10 lid 2 en/of artikel 10a3 van de wet.

- Go/ no go momenten worden voor aanvang van elk experiment afgestemd met de IvD.

Aanvraagnummer:
AVD1080020173964

- 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:
AVD1080020173964

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

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

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

Verzorging

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

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

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

Pijnbestrijding en verdoving

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

Aanvraagnummer:
AVD1080020173964

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

Einde van een dierproef

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

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

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

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

Levensloofdossier

Voor iedere hond, kat en niet-menselijke primaat moet volgens artikel 15a van de wet een levensloofdossier bijgehouden worden.

Beoordeling achteraf

Volgens artikel 10a1, lid 1d en lid 3 van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld worden.

Formulier

Beoordeling achteraf

(Versie 11 juli 2018)

- Dit formulier gebruikt u om uw beoordeling achteraf te schrijven.
- Gebruik bij het invullen van dit formulier de Toelichting op het formulier 'Beoordeling achteraf'.
- Meer informatie over de beoordeling achteraf vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.

1 Algemene gegevens

1.1 Vul het AVD nummer in.	AVD1080020173964	
1.2 Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder in.	Naam instelling of organisatie	Universiteit Utrecht
	E-mailadres contactpersoon	info.IVD@uu.nl
	(Optioneel) e-mailadres Instantie voor Dierenwelzijn	
1.3 Vul hier de gegevens van de verantwoordelijk onderzoeker in.	Titel, voorletters en achternaam	[REDACTED]
	Telefoonnummer	[REDACTED]
	E-mailadres	[REDACTED]

1.1 Vul de titel van het project in. Exploring cartilage regeneration due to joint distraction in the dog

2 Gebruik dieren

2.1 Geef per bijlage en per diersoort aan hoeveel dieren u heeft gebruikt. -Indien niet alle aangevraagde diersoorten gebruikt zijn, licht dit toe. -Indien dit afwijkt van het aantal dieren in de vergunning, verklaar het verschil.	Voor de bijlage "Groove model +/- Distractie" zijn 12 honden gebruikt. Niet alle aangevraagde proefdieren uit het werkprotocol zijn gebruikt omdat er onvoldoende capaciteit en middelen waren om experimenten met alle dieren uit te voeren in de periode tot 2022. Daarbij heeft de COVID19 pandemie een grote impact gehad op het project. Behorende bij dezelfde bijlage is gewrichtsvloeistof afgenomen bij één honden patiënt. Er zijn in de beschreven periode geen andere patiënten geïnccludeerd voor het onderzoek. Ook hier hebben we niet meer patiënten kunnen includeren vanwege de COVID19 pandemie.
--	--

- 2.2 Geef per bijlage en per diersoort aan: het aantal dieren dat terminaal, licht, matig of ernstig ongerief heeft ondergaan.
-Indien dit afwijkt van het vooraf ingeschatte cumulatieve ongerief, verklaar het verschil.

Voor de bijlage "Groove model +/- Distractie" zijn alle 12 honden aan het einde van de studie getermineerd. Bij 5/12 honden zijn tijdens de distractiefase botpinnen gebroken welke onder algehele anesthesie zijn vervangen. Daarnaast heeft één van de dieren last gekregen van een bot pin infectie waardoor we de pinnen tegelijkertijd hebben verwijderd met het verwijderen van het distractie frame zelf. Dit heeft geen effect gehad op het experiment zelf. Deze frequentie van pinbreuken was niet eerder gezien. Van deze dieren (50%) is het ongerief geschat op "matig ongerief". Zij hebben vanaf het moment dat de pinbreuken ontdekt werden tot de operatie/verwijdering van de bot pinnen adequate pijnstilling gekregen. Voor de andere dieren (50%) geldt een mild ongerief. De maximale hoeveelheid ongerief die de dieren hebben gehad ("matig ongerief") wijkt niet af van het vooraf ingeschatte cumulatieve ongerief. Deze complicatie (botpinbreuken) is opgelost door dikkere pinnen te gebruiken en het voortschrijdend inzicht is gedeeld met alle onderzoekers die gebruik maken van het distractie model, om hiermee het onverwachte ongerief te verminderen in opeenvolgende experimenten van andere onderzoekteams.

Behorende bij dezelfde bijlage, maar dan m.b.t. de honden patiënt, is het maximale ongerief "geen/licht" geweest naar aanleiding van het afnemen van gewrichtsvloeistof (geen complicaties). Dit wijkt niet af van het vooraf ingeschatte cumulatieve ongerief.

3 De 3V's

- 3.1 Vervanging
Zijn er tijdens het project voor het project relevante mogelijkheden voor vervanging naar voren gekomen?
- Zo ja, welke?
- Zo ja, in hoeverre heeft u deze kunnen toepassen in het project?
-Zo ja, in hoeverre zijn deze mogelijkheden relevant voor toekomstig onderzoek?

Voorafgaand aan en tijdens het project is er veel onderzoek gedaan *in vitro* met behulp van cellen, weefsels en bioreactors. Op dat punt was het niet meer mogelijk om verder te gaan in het laboratorium en was het gebruik van proefdieren om het effect van gewrichtsdistractie op het gehele gewricht te onderzoeken noodzakelijk. Tijdens het project zijn er geen relevante mogelijkheden voor vervanging naar voren gekomen.

Tijdens het onderzoek is optimaal gebruik gemaakt van beschikbaar weefsel voor de vergelijking van het distractie gewricht versus een gezond en vergevorderd artrotisch gewricht. Voor het verkrijgen van dit weefsel hebben wij gebruik gemaakt van honden die werden geëuthanaseerd in het kader van andere onderzoeken, donor honden die werden afgestaan voor de wetenschap, en materiaal van patiënten behandeld in de universiteitskliniek Utrecht.

Daarnaast is het materiaal van de honden uit deze studie wat niet gebruikt is in deze studie, gebruikt door andere onderzoekers waardoor zij minder/geen proefdieren hoeven te gebruiken. Hiervoor hebben we één keer een wijziging doorgevoerd in het protocol bij de CCD (heparine toevoegen voor de euthanasie onder sedatie) zodat het hartweefsel gebruikt kon worden (11-07-2018).

- 3.2 Vermindering
Zijn er tijdens het project voor het project relevante mogelijkheden voor verdere vermindering naar voren gekomen?
- Zo ja, welke?

Tijdens het project hebben we gekeken hoe we de honden uit dit onderzoek zo breed mogelijk konden inzetten voor non-invasieve onderzoeken. Zo hebben we de honden in de pre-operatieve fase (dus op het moment dat ze helemaal gezond waren) kunnen gebruiken om te kijken naar nieuwe loopanalyse technologieën. Dit leverde voor de proefdieren geen aanvullend ongerief op (eerder het tegengestelde aangezien ze het leuk vonden). De inzet van de honden hiervoor voorkwam wel dat er voor het onderzoek naar loopanalyse technologieën extra proefdieren ingezet hoefden te worden.

- Zo ja, in hoeverre heeft u deze kunnen toepassen in het project?
- Zo ja, in hoeverre zijn deze mogelijkheden relevant voor toekomstig onderzoek?
- Was het vooraf ingeschatte aantal dieren per proefgroep optimaal voor betrouwbare statistische analyse?

Verder hebben we ons gehouden aan de beschreven technieken waarbij dus zo veel mogelijk technieken zijn gebruikt om het weefsel uit te knie te kunnen analyseren om zoveel mogelijk data te vergaren.

Als laatste hebben we aan de hand van de eerste resultaten nogmaals berekend hoeveel dieren we nodig hebben voor het voldoende sensitief oppikken van de effecten. Ook hebben we kritisch gekeken naar de resultaten en besloten dat het eerste tijdstip (direct na KJD) weinig toevoegde aan de resultaten van een eerdere studie (die 4 weken na het begin van de KJD is uitgevoerd). Op basis van deze bevindingen hebben we het aantal gebruikte dieren kunnen verminderen. Het uiteindelijke aantal dieren wat we gebruikt hebben was voldoende voor een betrouwbare statistische analyse gebaseerd op de uiteindelijke effect grootte van de resultaten. Deze resultaten zijn ook als zodanig gepubliceerd.

3.3 Verfijning

- Zijn er tijdens het project voor het project relevante mogelijkheden voor verdere verfijning naar voren gekomen?
- Zo ja, welke?
- Zo ja, in hoeverre heeft u deze kunnen toepassen in het project?
- Zo ja, in hoeverre zijn deze mogelijkheden relevant voor toekomstig onderzoek?
- Is de monitoring van het dierenwelzijn adequaat gebleken?
- Kunnen de criteria voor humane eindpunten verfijnd worden?

Een van de mogelijkheden tot verfijning die naar voren is gekomen tijdens het onderzoek, is het verbeteren van de gebruikte bot pinnen. Tijdens het uitvoeren van deze experimenten zijn er bij een verhoogd aantal dieren (t.o.v. de vorige experimenten) gebroken botpinnen geconstateerd. Tijdens het tweede experiment bleek dit onafhankelijk van de batch van de botpinnen te zijn. Het zou beter zijn, indien mogelijk voor de biomechanica van het frame, om dikkere bot pinnen te gebruiken in volgende experimenten. Deze dikkere bot pinnen hebben we vervolgens gebruikt in de patiënt hond die we hebben behandeld met gewrichtsdistractie. Tijdens deze behandeling zijn geen van de botpinnen gebroken.

Ook is er gebleken dat een intensievere monitoring van het dierenwelzijn in de toekomst door de verantwoordelijke onderzoeker wenselijk is tijdens de distractie periode. Duidelijkere afspraken met de dierverzorging over wanneer ze de verantwoordelijk onderzoeker moeten attenderen kunnen hier aan bijdragen. De honden laten weinig zien als het ongerief toch toeneemt. Een verhoogde frequentie van het meten van de temperatuur en een assertievere houding naar gewichtsverlies is gewenst. Dit maakt het mogelijk om eerder in te grijpen bij ongerief met pijnstilling en/of antibiotica waardoor het maximale niveau van ongerief afneemt.

De criteria voor humane eindpunten zijn op dit moment verfijnd genoeg en bieden voldoende handvaten om te kunnen handelen. Tijdens de studies zijn er geen momenten geweest waarin we in de buurt zijn gekomen van een humaan eindpunt.

4 Strategie

- 4.1 Voldeden de diermodellen aan de verwachtingen? Licht uw antwoord toe. -Indien de diermodellen niet voldeden, beschrijf wanneer dit werd gesignaleerd, of de modellen zijn aangepast en of besloten is de proeven (tijdelijk) te stoppen?

Het diermodel voldeed aan de verwachtingen van het experiment. Er zijn geen aanpassingen gedaan met betrekking op het diermodel t.o.v. het beschreven en het voorgaande KJD-experiment.

4.2 Waren de in de aanvraag beschreven keuzemomenten en de criteria op basis waarvan keuzes werden gemaakt voldoende specifiek om onnodig gebruik en/of ongerief van dieren te voorkomen?

In de aanvraag zijn geen Go/No Go momenten opgenomen omdat de studie één geheel vormt. Deze momenten zijn ook niet tijdens de studie als nog toegevoegd.

5 Verworvenheden (wat heeft het project opgeleverd?)

5.1 In hoeverre zijn de directe doelen van het projectvoorstel bereikt? Indien de directe doelen niet (volledig) bereikt zijn, licht toe waarom niet.

De directe doelen van het project zijn deels bereikt; Key objective 1-2 zijn volledig bereikt: de transcriptionele respons op de middel- en lange termijn is bepaald door middel van RT-qPCR. Daarnaast is er gekeken op weefselniveau (door middel van biochemie en histologie) wat de situatie was in het kraakbeen, gewrichtskapsel en bot. We hebben hierbij veel geleerd over wat er gebeurt tijdens het proces van gewrichtsdistractie en in de tijd die hierna volgt. De bevindingen sluiten goed aan bij eerdere dierexperimenten en klinische humane studies. Er is meer inzicht gekomen in welke mechanismen een rol kunnen spelen tijdens gewrichtsdistractie en de resultaten uit deze studie zijn uitgangspunten voor nieuwe experimenten die verder op de geïdentificeerde pathways in kunnen gaan. De resultaten zijn verwerkt in de thesis van een promotietraject en gepubliceerd¹.

Key objective 3 (delineate how distraction enables MSC-mediate cartilage regeneration): Deze key objective is uiteindelijk uitgevoerd onder een andere DEC aanvraag en is daarom niet meegenomen in deze achteraf beoordeling.

Key objective 4: Analyses met human OA patiënten materiaal zijn uitgevoerd maar nog niet gepubliceerd. Daarnaast hebben we ook de eerste hond patiënt kunnen behandelen met gewrichtsdistractie, waarbij we veel hebben geleerd van de proefdier experimenten. De kosten van deze eerste studie zijn gedekt door fondsenwerving. Dit werk is ook gepubliceerd.² Meerdere patiënten zijn hiermee vooralsnog niet behandeld omdat de behandeling gepaard gaat met hoge kosten die eigenaren zelf niet willen betalen als ze alsnog met orale pijnstilling hun hond adequaat kunnen behandelen.

1) [Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
2) [Redacted]
[Redacted]
3) [Redacted]
[Redacted]

5.2 Zijn er nog andere waardevolle opbrengsten

1) Na euthanasie van de dieren, is het dierlijk materiaal wat niet gebruikt is in onze eigen studie, veelvuldig gebruikt door

van het project te vermelden?

andere onderzoekers als (gezond referentie) materiaal (+/- 10 andere projecten).

- 2) Daarnaast hebben we ook zelf materiaal van deze dieren in een biobank bewaard welke niet direct voor dit project nodig waren. Hiermee kunnen we in de toekomst ons onderzoek voortzetten.
- 3) De expertise die is ontwikkeld in het kader van deze dierexperimenten zijn gebruikt om gewrichtsdistractie toe te passen als therapie voor eindstadium artrose in één patiënt hond.

6 Overige aspecten

6.1 Heeft u nog verdere opmerkingen die volgens u relevant zijn voor de beoordeling achteraf van het project?

Tijdens de dierproeven is er nauw contact geweest met de IvD om zaken zo goed mogelijk te laten verlopen. Dit heeft ertoe geleid dat we snel en adequaat konden reageren op veranderende situaties tijdens de proefdierexperimenten.

7 Leerpunten

7.1 Beschrijf wat voor u de belangrijkste leerpunten zijn met betrekking tot het ontwerp van en de uitvoering van toekomstige projecten.

De belangrijkste leerpunten zijn dat intensievere monitoring tijdens de distractieperiode wenselijk is in het belang van de dieren.

8 Ondertekening

8.1

Ondertekening door de portefeuillehouder namens de instellingsvergunninghouder. De ondergetekende verklaart:

- dat de beantwoording van de vragen in het formulier Beoordeling achteraf is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam

[Redacted]

Datum

11 januari 2024

Handtekening

[Redacted]



Aanvulling Niet-technische samenvatting

Beoordeling achteraf 20173964-BA

- 1 Algemene gegevens**
- 1.1 Titel van het project
- Wat maakt gewrichtsdistractie zo succesvol in het herstellen van artrose?
-
- 2 Gebruik dieren**
- 2.1 Welke diersoorten zijn gebruikt?
- De hond, waarvan het kniegewricht zeer goed vergelijkbaar is met die van de mens, is gebruikt als diersoort.
- 2.2 Hoeveel dieren zijn gebruikt?
- Uiteindelijk zijn 12 honden gebruikt in dit dierexperiment.
- 2.3 Wat is het werkelijke ongerief dat de dieren hebben ondergaan?
- Het werkelijke ongerief wat de honden hebben ondergaan was in 50% van de dieren minder dan verwacht ("mild ongerief") en in 50% van de dieren zoals verwacht ("matig ongerief").
-
- 3 Opbrengsten**
- 3.1 Wat zijn de belangrijkste opbrengsten van het project?
- De belangrijkste opbrengst van het project is een nieuw inzicht in hoe gewrichtsdistractie bijdraagt aan kraakbeenherstel. Wij hebben namelijk laten zien dat het herstel van het kraakbeen optreedt na de distractieperiode. Deze inzichten zijn gepubliceerd in een wetenschappelijk tijdschrift en kunnen bijdragen aan het optimaliseren van het gebruik van gewrichtsdistractie als therapie bij mensen. Daarnaast is met de kennis uit deze dierproeven ook de eerste hond patiënt met eind-stadium artrose behandeld met gewrichtsdistractie als therapie. Dit was erg succesvol en de hond heeft 2-3 jaar lang minder last gehad van zijn artrose pijn en is uiteindelijk aan een andere oorzaak overleden. Ook deze casus is gepubliceerd in een wetenschappelijk tijdschrift. In de toekomst zouden we graag willen kijken hoe we deze therapie zouden kunnen toepassen bij honden patiënten, waarbij we moeten kijken hoe we kosten van de behandeling kunnen verlagen.
-

4 Nieuwe inzichten

4.1 Zijn er nieuwe inzichten die kunnen leiden tot vervanging, vermindering en/of verfijning?

Tijdens het project hebben we optimaal gebruik gemaakt van het dierlijk materiaal dat we van de honden hebben verzameld. Uiteindelijk heeft dit materiaal bijgedragen aan de onderzoeken van +/- 10 andere onderzoeksprojecten onafhankelijk van het huidige onderzoek. Daarnaast hebben we inzicht gekregen in een verfijning van de proefdierexperimenten waarbij we keuze voor de diameter van de gebruikte botpinnen beter correleren aan het gewicht van het dier, wat zeker een belangrijke rol gaat spelen indien we honden patiënten gaan behandelen.

5 In te vullen door CCD

Publicatie datum

29-3-2024

Andere opmerkingen

Dit betreft een beoordeling achteraf.