

Inventaris Wob-verzoek W21-04										
		wordt verstrekt			weigeringsgronden					
nr.	documenten NTS2017881	reeds openbaar	niet	geheel	deels	5.1, lid 1c	5.2, lid 2e	5.1, lid 2f	5.1, lid 2h	5.2, lid 1
1	Aanvraagformulier				x		x		x	
2	Projectvoorstel				x				x	
3	Niet-technische samenvatting	x								
4	Bijlage beschrijving dierproeven 1				x				x	
5	Bijlage beschrijving dierproeven 2				x				x	
6	DEC-advies				x		x		x	
7	Ontvangstbevestiging				x		x		x	
8	Verzoek aanvulling aanvraag				x		x		x	
9	Reactie verzoek aanvulling			x						
10	Advies CCD				x		x		x	
11	Beschikking en vergunning				x		x		x	



Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl, 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	<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	
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	
		KvK-nummer	
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	161
		Postbus	
		Postcode en plaats	
		IBAN	M
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	
		Functie	Afdelingshoofd
		Afdeling	Immunobiologie
		Telefoonnummer	
		E-mailadres	
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	
		Functie	Postdoc onderzoeker
		Afdeling	Immunobiologie
		Telefoonnummer	
		E-mailadres	

- 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	[REDACTED]	X Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
Functie	Afdelingshoofd	
Afdeling	Animal Science	
Telefoonnummer	+	
E-mailadres	[REDACTED]	

- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?

X Ja > *Stuur dan het ingevulde formulier Melding Machtiging mee met deze aanvraag.*

Nee

2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?

X 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 01 - 08 - 2017

Einddatum 01 - 08 - 2022

- 3.2 Wat is de titel van het project?

Evaluatie van therapieën voor de behandeling van multipele sclerose

- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?

Evaluatie van nieuwe kandidaat-geneesmiddelen voor de behandeling van multiple sclerose

- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?

Naam DEC	[REDACTED]
Postadres	[REDACTED]
E-mailadres	[REDACTED]

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1187 Lege
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen. Via een eenmalige incasso
 Na ontvangst van de factuur
- 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.*

5 Checklist bijlagen

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

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 [REDACTED]

Functie Adjunct Directeur

Plaats [REDACTED]

Datum 1 - 5 - 2017

Handtekening [REDACTED]



Format

Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

2 Categorie van het project

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

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Wat is MS? Multiple sclerose (MS) is een zeer ernstige chronische aandoening die de zenuwbanen in het

centrale zenuwstelsel (CZS) aantast. De ziekte treft vooral jong volwassenen (start tussen 20 – 50 jaar) met een incidentie van 1 op 1000. MS is daarmee na trauma de belangrijkste neurologische ziekte in jong volwassenen. Er zijn circa 17.000 MS patiënten in Nederland. Een Amerikaanse studie uit 2013 laat zien dat de jaarlijkse kosten voor behandeling en zorg per MS patiënt afhankelijk van de behandeling tussen 10.000 en 50.000 USD bedragen [1].

In ongeveer 80% van de gevallen begint de ziekte met een relapsing-remitting (RR-MS) beloop waarbij episodes met neurologische klachten (relapse) alterneren met gedeeltelijk of zelfs geheel herstel (remissie). Rond de leeftijd van 40 jaar verandert de ziekte naar een progressief beloop (secundair progressieve MS, SP-MS) en vindt er nauwelijks herstel meer plaats. Een van de belangrijkste vragen in het MS onderzoek, waar wij een bijdrage aan willen leveren, is wat er verandert bij de overgang van RR naar SP-MS. In een minderheid van de patiënten openbaart de ziekte zich als progressief vanaf het begin (primaire progressieve MS, PP-MS).

De meest voorkomende symptomen zijn ernstige vermoeidheid, tijdelijke blindheid, verminderde mobiliteit, spierzwakte, incontinentie, stijfheid, en onhandigheid en slepen van de benen (meestal asymmetrisch). Uiteindelijk kan de ziekte leiden tot gedeeltelijke of gehele verlamming van de ledematen. Naast motorische problemen ontstaan er ook problemen met geheugen en concentratie, de zogeheten cognitieve problemen, die de kwaliteit van leven ernstig beïnvloeden [2, 3]. Patiënten met gevorderde MS hebben een sterk verminderde kwaliteit van leven, moeten al snel stoppen met werken en alhoewel MS in het algemeen niet dodelijk is, kunnen MS patiënten wel eerder overlijden als gevolg van infecties, zoals een longontsteking.

Oorzaak van MS: De oorzaak van MS is onbekend [4], maar uit epidemiologische studies blijkt dat de interactie tussen genetische en omgevingsfactoren een belangrijke rol speelt. Genetische studies tonen een bijdrage aan van meer dan 200 genen aan de predispositie voor MS, hoewel de rol van individuele genen met uitzondering van major histocompatibility complex (MHC) genen beperkt is. De overgrote meerderheid van de gevonden genen heeft een functie in het immuunsysteem. Omgevingsfactoren die een rol spelen bij MS zijn onder andere vitamine D, roken en infectie met de herpesvirussen Epstein-Barr virus (EBV) en cytomegalovirus (CMV) [5] [6]. Het is echter onduidelijk hoe de bijdrage van deze factoren en hun interactie mechanistisch in elkaar zit. De notie dat het immuunsysteem een centrale rol speelt in het ziekteproces maakt het een belangrijk onderwerp van preklinisch onderzoek alsmede een doelwit voor therapeutische interventie.

Pathologische aspecten van MS: De pathologie van MS kenmerkt zich door laesies in het ruggenmerg en de hersenen, zowel in de witte als de grijze stof. Er zijn infiltraten van immuuncellen aanwezig (macrofagen, B-cellen en T-cellen), er is schade aan myeline (demyelinisatie), de isolerende laag rond zenuwuitlopers (axonen), en beschadiging van de axonen. Laesies in de witte stof van het centrale zenuwstelsel zijn het belangrijkste kenmerk van MS en komen voor in RR-MS en de progressieve vormen. Grijze stof laesies zijn een typisch kenmerk van de progressieve fase van de ziekte; deze veroorzaken veel van de cognitieve problemen.

Behandeling: Op dit moment zijn er 14 therapieën officieel goedgekeurd voor RR-MS. Dit zijn biologicals als IFN-beta en fingolimod en antilichamen gericht tegen B-cellen (zoals rituxumab) of tegen de migratie van lymfocyten naar de hersenen (zoals natalizumab). Deze therapieën remmen met name de ontstekingsactiviteit van T-cellen en macrofagen. Daarmee wordt voorkomen dat de ziekte verergert, maar de patiënt wordt niet beter aangezien de myeline-laag en zenuwcellen onherstelbaar beschadigd zijn. De huidige therapieën werken maar in een deel van de patiënten met RR-MS [7] en ze hebben nauwelijks effect in de progressieve fase van MS. Tevens kunnen er ernstige bijwerkingen ontstaan, zoals reactivatie van virussen en autoimmuun-reacties gericht tegen bijvoorbeeld de schildklier. Daarom zullen ook de komende jaren nog veel nieuwe therapieën tegen MS ontwikkeld en getest moeten worden. Voor de progressieve vormen van MS (SP-MS en PP-MS) zijn er nog geen medicijnen beschikbaar. Dit komt doordat de pathogene mechanismes tijdens progressieve MS alsmede het precieze verschil met RR-MS nog onbekend zijn. Tevens is er nog geen goed diermodel voor progressieve MS bekend, maar zoals hieronder beschreven wordt deze fase van MS het beste gemodelleerd in het marmoset model voor MS.

Het EAE model: Een van de best gekarakteriseerde diermodellen voor MS is experimentele autoimmuun encefalomyelitis (EAE); het model is ontwikkeld in ratten, muizen en niet-humane primaten (NHP) [8, 9]. Het muizen EAE model wordt veel gebruikt voor basaal onderzoek alsmede het testen van nieuwe

kandidaat-geneesmiddelen. Het muizen EAE model heeft in belangrijke mate bijgedragen aan de huidige inzichten in de ziekte mechanismes van MS. In het muizen EAE model zijn diverse therapieën ontwikkeld die gebruikt worden voor de behandeling van RRMS. Een voorbeeld daarvan is de monoclonale antistof natalizumab, dat de entree van immuuncellen in het CNS blokkeert. Er is echter een lange lijst van aanvankelijk veelbelovende kandidaat geneesmiddelen die de vertaling van diermodel naar MS patiënt niet hebben overleefd vanwege onverwachte toxiciteit of onwerkzaamheid. Het wordt in toenemende mate duidelijk dat het muizen EAE model zeer bruikbaar is voor fundamenteel onderzoek aan bepaalde facetten van MS, met name de rol van ontstekingscellen, maar dat het door de afwezigheid van immunologische mechanismes die werkzaam zijn in de chronische fase van MS niet goed bruikbaar is voor geneesmiddelenontwikkeling.

In bepaalde opzichten lijkt het muizen-model niet goed op MS. In het muizen EAE model zitten de laesies alleen in het ruggenmerg, terwijl in MS vooral ook de hersenen zijn aangetast. Tevens lijken deze laesies qua complexiteit niet goed op de laesies in MS patiënten [10]. Ook is er een verschil wat betreft het immuun mechanisme dat tijdens de ziekte een rol speelt: in het muizen EAE model spelen voornamelijk de CD4+ T-helper cellen een rol, terwijl in MS CD8+ killer T cellen het belangrijkste lijken te zijn.

De common marmoset (*Callithrix jacchus*), ook wel het penseelaapje genoemd, is een belangrijk diermodel voor humane ziektes [11, 12], waaronder MS. Het EAE model in de huidige sterk verfijnde vorm is het resultaat van een stapsgewijs reductionistisch proces en heeft zich de afgelopen twee decennia ontwikkeld tot een zeer solide, relevant en goed gevalideerd preklinisch model voor MS [13-15].

Bijzondere eigenschappen van het marmoset EAE model:

- Een direct gevolg van de verfijning van het outbred marmoset EAE model is dat het effect van de genetische heterogeniteit tot uitdrukking komt in een grotere variatie in de respons op de immunisatie en de respons op behandeling. Een dergelijke variatie wordt ook gezien in de MS patiënten populatie. Dit effect kan worden gecompenseerd door studies op te zetten in beenmerg chimere tweelingen, die ondanks genetische verschillen immunologisch sterk vergelijkbaar zijn.
- De klinische symptomen van MS zijn goed terug te zien in het model, o.a. evenwichtsstoornissen en (in)complete verlamming;
- Er is pathologie in de hersenen en het ruggenmerg, terwijl het muizen-EAE vooral wordt gekenmerkt door pathologie in het ruggenmerg;
- Er zijn laesies niet alleen in de witte stof, maar vooral ook in de grijze stof van de hersenen, waardoor het marmoset EAE model te gebruiken is als model voor progressieve MS;
- De laesies in het marmoset EAE model worden gekarakteriseerd door oxidatieve schade en redistributie van ijzer afkomstig uit oligodendrocyten. De patronen zijn sterk vergelijkbaar met MS (Dunham et al in progress). Deze aspecten zijn afwezig in de huidige EAE modellen in SPF muizen [10];
- Een belangrijk verschil tussen de modellen in onder specific pathogen free (SPF) condities gefokte knaagdieren en de onder conventionele condities gefokte marmoset is de maturiteit van het immuunsysteem. Voor inductie van EAE in immunologisch immature SPF muizen moeten sterke bacteriële adjuvantia worden gebruikt, zoals compleet Freund's adjuvant en Bordetella pertussis (toxine) terwijl voor EAE inductie in immunologisch goed-ontwikkelde marmoset het veel mildere incompleet Freund's adjuvant volstaat. Deze verfijning impliceert niet alleen een aanmerkelijke reductie van het ongerief van ziekte inductie door immunisatie voor het dier, maar levert ook een veel relevanter model op voor translationele studies naar de pathogenese en behandeling van MS dan de vigerende knaagdiermodellen [15, 16].
- Voor wat omgevingsfactoren betreft ondersteunt ons onderzoek in het marmoset model voor MS het concept dat infectie met bepaalde herpesvirussen (CMV en EBV) hyperreactiviteit van het immuunsysteem tegen myeline eiwitten induceert [6]. De verfijning zoals hierboven beschreven is gebaseerd op de reactivatie van effector-geheugen T cellen in het immuunrepertoire van de primaat. Eerder onderzoek toonde aan dat het repertoire waaruit deze auto-agressieve T-cellen afkomstig zijn, worden aangelegd als reactie op chronisch latente infectie met cytomegalovirus (CMV). Bij de activatie spelen B-cellen geïnfecteerd met een aan Epstein Barr Virus verwant γ 1-herpesvirus

(CalHV3) een essentiële rol. Beide herpesvirussen hebben pathogene relevantie voor MS, maar zijn niet aanwezig in SPF knaagdieren. Pogingen om de rhMOG/IFA en MOG34-56/IFA modellen in muizen op te zetten zijn dan ook mislukt.

- Tevens heeft het marmoset EAE model een chronisch beloop; een gemiddeld experiment duurt 100-120 dagen en kan er zeer regelmatig bloed worden afgenomen voor immuun-profilering. Hierdoor kan het effect van een kandidaat-geneesmiddel op de langere termijn worden gevolgd. Een voorbeeld: op dit moment zijn er een aantal kandidaat-geneesmiddelen die de verhouding tussen de pathogene T-cel en de regulatoire T-cel veranderen. In het marmoset EAE model kan dit goed worden gevolgd doordat het een chronisch model is, terwijl een muizen-experiment gemiddeld 15 dagen duurt.
- Voor immunologisch onderzoek in het muizen EAE model wordt alleen de milt gebruikt. Voor immunologisch onderzoek in de MS patiënt is alleen het bloed beschikbaar. Deze beperking kan een vertekend beeld geven van de werkzaamheid van een kandidaat geneesmiddel. Immers, wanneer een bepaalde immunologische activiteit na behandeling niet meer in het bloed of in de milt aantoonbaar is, is het heel goed mogelijk dat de activiteit zich verplaatst heeft naar een ander immuuncompartiment. Een belangrijk voordeel van het marmoset EAE model is dat een multi-compartimentale immuunprofilering worden gedaan. Dit omvat naast bloed ook primaire (thymus en beenmerg) en secundaire (milt en lymfeklieren) lymfoïde organen.

Inductie-methode van EAE in marmosets: Er zullen twee varianten van het EAE model worden gebruikt, namelijk geïnduceerd met een recombinant eiwit, gebaseerd op het extracellulaire domein van humaan myeline oligodendrocyt glycoproteïne (rhMOG) of een van dit eiwit afgeleid peptide (residuen 34-56; MOG34-56). In het rhMOG/IFA model worden de autoimmuun-mechanismes gemodelleerd die de ziekte initiëren, namelijk pro-inflammatoire T cellen en B cellen; in het MOG34-56/IFA model worden de mechanismes gemodelleerd die de transitie naar progressieve MS mediëren, namelijk activatie van cytotoxische T cellen [17, 18]. Van het laatste model bestaat geen equivalent in knaagdieren. Tezamen bestrijken deze twee modellen de meest belangrijke aspecten van de MS pathogenese.

Beknopte samenvatting van de immunopathogenese van het EAE model:

Het marmoset EAE model wordt gebruikt voor translationeel onderzoek. Translationeel onderzoek in het marmoset EAE model geeft niet alleen antwoord op de effectiviteit van een nieuwe therapie maar leidt ook tot inzichten in het model, in MS, of in het werkingsmechanisme van de therapie. Belangrijke inzichten werden verkregen door een kritische evaluatie van de redenen waarom bepaalde therapieën goed werkzaam waren in MS, terwijl anderen faalden. De onwerkzaamheid in RRMS van een monoclonaal antistof (ustekinumab) tegen de T-cel specifieke signaal moleculen IL-12 en IL-23 kan mogelijk worden verklaard uit het feit dat wanneer de ziekte op gang gekomen is de ziekte wordt voortgedreven door effector geheugen T cellen die niet gevoelig zijn voor IL-12 en IL-23.

Verder onderzoek gaf een mechanistische verklaring voor de slecht begrepen effectiviteit in RRMS van een monoclonaal antistof (rituximab) dat een ander type lymfocyt depleteert, de CD20+ B-cel. Wij vonden in het marmoset model dat niet alleen witte stof laesies maar ook grijze stof laesies voorkomen kunnen worden door B-cel depletie [19]. Dit is in mensen zeer lastig te onderzoeken omdat grijze stof laesies niet goed te zien zijn op MRI. Verder bleek uit een uitgebreide analyse van secundaire lymfoïde organen (milt en lymfeklieren) na B-cel depletie dat T-cellen een signaal krijgen van B-cellen waardoor ze uit de lymfoïde organen migreren. Als B-cellen worden gedepleteerd blijven T-cellen in de milt of lymfeklieren in plaats van te migreren naar de hersenen [20]. Een ander type behandeling gericht op B-cel depletie is door middel van het wegvangen van twee cytokines die B cellen nodig hebben voor hun overleving en functie (BlyS/APRIL). In tegenstelling tot rituximab bleek deze behandeling onverwacht onwerkzaam te zijn in MS. Deze B-cel depletie studies toonden aan dat B-cellen die geïnfecteerd zijn met een marmoset-specifiek lymfocryptovirus verwant aan EBV een cruciale rol spelen in het model. Behandeling met het anti-CD20 antilichaam voorkwam evenals in MS de ontwikkeling van klinische symptomen en pathologie [21, 22]. In deze dieren was ook geen DNA van het lymfocryptovirus in lymfeklieren en milt meer te vinden. In dieren behandeld met een antilichaam tegen de B-cel groeifactoren BlyS of APRIL werd slechts een beperkt klinisch effect van de behandeling aangetoond hoewel een belangrijk deel van de B-cellen waren gedepleteerd; echter de met lymfocryptovirus geïnfecteerde B cellen waren niet gedepleteerd. Dit komt omdat lymfocryptovirus-geïnfecteerde B cellen

BLYS en APRIL niet nodig hebben voor de groei. Deze dieren ontwikkelden toch EAE [23]. Deze en andere hier niet besproken waarnemingen tonen aan dat juist de B-cellen met het lymfocryptovirus gedepleteerd moeten worden om een effect te zien op de klinische symptomen en pathologie [24, 25]. Met deze informatie is vervolgens een onderzoekslijn opgezet naar de rol van EBV in MS en EAE. In MS zijn CD8+ T-cellen erg belangrijk. Uit ons onderzoek blijkt dat het myeline-eiwit MOG in EBV+ B-cellen anders wordt geprocessed dan in gewone B-cellen, waardoor het mogelijk in MHC klasse I terecht komt en dus gepresenteerd kan worden aan CD8+ T cellen [26].

Waarom de niet-humane primate?:

MS is een ziekte veroorzaakt door complexe interacties tussen het centrale zenuwstelsel en het gehele afweersysteem. Ook de geneesmiddelen grijpen in op deze interactie. Met de huidige stand van de proefdier vrije alternatieven is het niet mogelijk deze interactie en het effect van geneesmiddelen buiten het levende dier te bestuderen. Wanneer mogelijk zal een kandidaat-geneesmiddel eerst of alleen in een knaagdier model voor MS worden getest. Er zijn echter situaties waarin het marmoset EAE model ingezet moet worden, bijvoorbeeld in de volgende gevallen: Nieuwe geneesmiddelen kunnen met de huidige technologieën steeds specifieker voor de mens worden gemaakt, waardoor ze in knaagdieren hun aangrijpingspunt niet meer herkennen en in apen wel. Ook kan het zijn dat het pathologisch proces waarop de therapie aangrijpt in knaagdier-modellen geen rol speelt of niet aanwezig is, zoals de met lymfocryptovirus-geïnficeerde B-cellen of de oxidatieve stress in grijze stof laesies.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Het doel van dit project is om de effectiviteit van kandidaat-geneesmiddelen tegen MS te bepalen in het diermodel voor MS, namelijk EAE in de marmoset.

Het instituut waar dit onderzoek zal worden uitgevoerd [REDACTED] heeft in de afgelopen 20 jaar grote expertise opgebouwd op het gebied van het uitvoeren van vergelijkbare studies in het EAE model. Het marmoset EAE model is gebruikt voor het testen van IFN-gamma [27] en antilichamen tegen IL-12p40 [28, 29], CD40 [30, 31], IL-17A [32], CD20 [19, 21, 22], IL-7 receptor (CD127) [33] en antilichamen tegen de B-cel groeifactoren BLYS en April [23]. Tevens is onderzocht of tolerantie geïnduceerd kan worden met een fusie eiwit dat gebruik maakt van het cholera toxine subunit en een Ig bindende regio van staphylococcus aureus protein [34]. Tenslotte is het model gebruikt om de haalbaarheid van stamcel therapie te onderzoeken; dit betrof neurale stamcellen [35] en geïnduceerde pluripotente stamcellen (IPS) [36].

Het instituut waar deze studies zullen worden uitgevoerd heeft beschikking over een grote fokkolonie van marmosets. Op het instituut is de infrastructuur en de expertise aanwezig om deze studies veilig, op DM-2 en ML-2 niveau, en binnen de gestelde termijn uit te voeren.

Referenties bij 3.1 en 3.2

1. Adelman, G. et al. (2013) The cost burden of multiple sclerosis in the United States: a systematic review of the literature. *J Med Econ* 16 (5), 639-47.
2. Compston, A. and Coles, A. (2002) Multiple sclerosis. *Lancet* 359 (9313), 1221-31.
3. Compston, A. and Coles, A. (2008) Multiple sclerosis. *Lancet* 372 (9648), 1502-17.
4. Lassmann, H. (2013) Pathology and disease mechanisms in different stages of multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 333 (1-2), 1-4.
5. Pender, M.P. and Burrows, S.R. (2014) Epstein-Barr virus and multiple sclerosis: potential

- opportunities for immunotherapy. *Clin Transl Immunology* 3 (10), e27.
6. Vanheusden, M. et al. (2015) Cytomegalovirus: a culprit or protector in multiple sclerosis? *Trends Mol Med* 21 (1), 16-23.
 7. Bertolotto, A. and Gilli, F. (2008) Interferon-beta responders and non-responders. A biological approach. *Neurol Sci* 29 Suppl 2, S216-7.
 8. Gold, R. et al. (2006) Understanding pathogenesis and therapy of multiple sclerosis via animal models: 70 years of merits and culprits in experimental autoimmune encephalomyelitis research. *Brain* 129 (Pt 8), 1953-71.
 9. Friese, M.A. et al. (2006) The value of animal models for drug development in multiple sclerosis. *Brain* 129 (Pt 8), 1940-52.
 10. Schuh, C. et al. (2014) Oxidative tissue injury in multiple sclerosis is only partly reflected in experimental disease models. *Acta Neuropathol* 128 (2), 247-66.
 11. 't Hart, B.A. et al. (2012) The marmoset monkey: a multi-purpose preclinical and translational model of human biology and disease. *Drug Discov Today* 17 (21-22), 1160-5.
 12. Mansfield, K. (2003) Marmoset models commonly used in biomedical research. *Comp Med* 53 (4), 383-92.
 13. Kap, Y.S. et al. (2010) Experimental autoimmune encephalomyelitis in the common marmoset, a bridge between rodent EAE and multiple sclerosis for immunotherapy development. *J Neuroimmune Pharmacol* 5 (2), 220-230.
 14. 't Hart, B.A. et al. (2015) The primate autoimmune encephalomyelitis model; a bridge between mouse and man. *Annals of Clinical and Translational Neurology* 2 (5), 581-593.
 15. Kap, Y.S. et al. (2016) The common marmoset as an indispensable animal model for immunotherapy development in multiple sclerosis. *Drug Discov Today* 21 (8), 1200-5.
 16. 't Hart, B.A. (2016) Why does multiple sclerosis only affect human primates? *Mult Scler* 22 (4), 559-63.
 17. Jagessar, S.A. et al. (2010) Induction of progressive demyelinating autoimmune encephalomyelitis in common marmoset monkeys using MOG34-56 peptide in incomplete Freund adjuvant. *J Neuropathol Exp Neurol* 69 (4), 372-385.
 18. Jagessar, S.A. et al. (2015) Immune profile of an atypical EAE model in marmoset monkeys immunized with recombinant human myelin oligodendrocyte glycoprotein in incomplete Freund's adjuvant. *J Neuroinflammation* 12, 169.
 19. Kap, Y.S. et al. (2011) B-cell depletion attenuates white and gray matter pathology in marmoset experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuropathol Exp Neurol* 70 (11), 992-1005.
 20. Kap, Y.S. et al. (2014) CD20+ B cell depletion alters T cell homing. *J Immunol* 192 (9), 4242-53.
 21. Kap, Y.S. et al. (2010) Late B cell depletion with a human anti-human CD20 IgG1kappa monoclonal antibody halts the development of experimental autoimmune encephalomyelitis in marmosets. *J Immunol* 185 (7), 3990-4003.
 22. Jagessar, S.A. et al. (2012) B-cell depletion abrogates T cell-mediated demyelination in an antibody-nondependent common marmoset experimental autoimmune encephalomyelitis model. *J Neuropathol Exp Neurol* 71 (8), 716-728.
 23. Jagessar, S.A. et al. (2012) Antibodies against human BLYS and APRIL attenuate EAE development in marmoset monkeys. *J Neuroimmune Pharmacol* 7 (3), 557-70.
 24. Jagessar, S.A. et al. (2013) The different clinical effects of anti-BLYS, anti-APRIL and anti-CD20 antibodies point at a critical pathogenic role of gamma-herpesvirus infected B cells in the marmoset EAE model. *J Neuroimmune Pharmacol* 8 (3), 727-38.
 25. 't Hart, B.A. et al. (2013) The primate EAE model points at EBV-infected B cells as a preferential therapy target in multiple sclerosis. *Front Immunol* 4, 145.
 26. Jagessar, S.A. et al. (2016) Lymphocryptovirus infection of nonhuman primate B cells converts destructive into productive processing of the pathogenic CD8 T cell epitope in myelin oligodendrocyte glycoprotein. *J Immunol* 197 (4), 1074-88.
 27. Jagessar, S.A. et al. (2012) Discrepant effects of human interferon-gamma on clinical and immunological disease parameters in a novel marmoset model for multiple sclerosis. *J Neuroimmune Pharmacol* 7 (1), 253-65.
 28. Brok, H.P. et al. (2002) Prevention of experimental autoimmune encephalomyelitis in common marmosets using an anti-IL-12p40 monoclonal antibody. *J Immunol* 169 (11), 6554-63.
 29. 't Hart, B.A. et al. (2005) Suppression of ongoing disease in a nonhuman primate model of multiple sclerosis by a human-anti-human IL-12p40 antibody. *J Immunol* 175 (7), 4761-8.
 30. Laman, J.D. et al. (2002) Protection of marmoset monkeys against EAE by treatment with a murine antibody blocking CD40 (mu5D12). *Eur J Immunol* 32 (8), 2218-28.
 31. 't Hart, B.A. et al. (2005) Treatment with chimeric anti-human CD40 antibody suppresses MRI-

detectable inflammation and enlargement of pre-existing brain lesions in common marmosets affected by MOG-induced EAE. *J Neuroimmunol* 163 (1-2), 31-9.

32. Kap, Y.S. et al. (2011) Effects of early IL-17A neutralization on disease induction in a primate model of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmune Pharmacol* 6 (3), 341-53.

33. Dunham, J. et al. (2016) Blockade of CD127 exerts a dichotomous clinical effect in marmoset experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmune Pharmacol* 11 (1), 73-83.

34. Kap, Y.S. et al. (2015) Immune modulation by a tolerogenic myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG)10-60 containing fusion protein in the marmoset experimental autoimmune encephalomyelitis model. *Clin Exp Immunol* 180 (1), 28-39.

35. Pluchino, S. et al. (2009) Human neural stem cells ameliorate autoimmune encephalomyelitis in non-human primates. *Ann Neurol* 66 (3), 343-54.

36. Thiruvalluvan, A. et al. (2016) Survival and functionality of human induced pluripotent stem cell-derived oligodendrocytes in a nonhuman primate model for multiple sclerosis. *Stem Cells Transl Med* 5 (11), 1550-1561.

3.3 Belang

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

Wetenschappelijk: Uit het feit dat een hoog percentage van de kandidaat geneesmiddelen de vertaling van diermodel naar de MS patient niet overleven (> 90% voor RRMS en 100% voor SP en PP MS) blijkt hoe beperkt onze kennis nog is van de onderliggende ziekte mechanismes. Een belangrijke oorzaak is de gapende kloof tussen de in het preklinisch onderzoek gebruikte EAE modellen in SPF knaagdieren en de MS patiënt. Er is dringend behoefte aan een relevant diermodel dat deze kloof kan overbruggen. Het EAE model in de marmoset wordt algemeen beschouwd als een zeer relevante overbrugging, enerzijds vanwege de immunologische overeenkomst met zowel muizen EAE als MS, anderzijds vanwege de grote pathologische overeenkomsten met MS. Onderzoek in het marmoset model kan belangrijke nieuwe inzichten verschaffen in de overgang van de relapsing-remitting naar de progressieve fase van de ziekte, waarvoor op dit moment nog geen enkele effectieve medicatie bestaat.

Maatschappelijk: In Nederland leven ongeveer 17.000 mensen met MS, dat is 1 op de 1000 mensen. De ziekte treft vooral jong-volwassenen en is na trauma de belangrijkste oorzaak van neurologische ziekte in jong-volwassenen. MS heeft een sterke impact op de maatschappelijke participatie (werk/sociale contacten). De MS patiënt kan door het toenemend verlies van neurologische functies een aanzienlijk verminderde kwaliteit van leven ervaren. De jaarlijkse kosten voor de zorg en behandeling van de 17.000 MS patiënten liggen tussen 500 en 800 miljoen euro.

Medisch: Er is dringend behoefte aan een qua effectiviteit en veiligheid adequate behandeling van MS. De huidige therapieën die ontwikkeld zijn tegen MS werken niet in alle RR-MS patiënten, en zijn niet werkzaam in patiënten met SP-MS of PP-MS. Tevens hebben de huidige therapieën veel bijwerkingen zoals terugkerende infecties waardoor een patiënt moet stoppen met de therapie. Omdat de ziekte een ernstig verloop heeft met blijvende invaliditeit is het zeer belangrijk dat de ontwikkeling van nieuwe therapieën tegen MS blijft doorgaan. Een belangrijk probleem van de SPF muis EAE modellen die thans worden gebruikt voor de selectie van kandidaat geneesmiddelen is de slechte voorspelbaarheid voor succes in klinische trials. Meer dan 90% van de kandidaten sneuvelt in de vertaling van diermodel naar MS patient. De ontwikkeling van technologieën en diermodellen om deze kloof te overbruggen is een top-prioriteit in het geneesmiddelen onderzoek. Het marmoset EAE model kan daar aan bijdragen enerzijds door het testen van de effectiviteit van nieuwe medicijnen maar anderzijds ook doordat onderzoek in het model informatie oplevert over de werking van medicijnen.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Het project zal bestaan uit meerdere EAE studies, waarin per studie één groep marmosets dient als controle en één of meerdere groepen marmosets worden behandeld met de te testen therapie. In elke studie zal gekeken worden naar de klinische score, de pathologie in het centrale zenuwstelsel en naar het

immuunsysteem in bloed en lymfoïde organen. Wanneer nodig, dit is niet altijd het geval, zal er voorafgaand aan de EAE studie een farmacokinetiek/farmacodynamiek (PK/PD) studie worden uitgevoerd om de optimale dosis en/of toedieningsschema van de therapie te bepalen.

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

Farmacokinetiek/farmacodynamiek in de marmoset:

Voor dit experiment zal één of meerdere concentraties van de therapie eenmalig of herhaaldelijk worden ingespoten in de marmoset. Herhaaldelijke bloedafnames zullen informatie geven over de te gebruiken dosis en/of toedieningsschema tijdens de evaluatie van de therapie in het marmoset EAE model.

Therapie evaluatie in het marmoset EAE model:

De marmosets worden geïmmuniseerd met rhMOG/IFA of MOG34-56/IFA (elke 28 dagen tot er neurologische symptomen optreden, EAE score 2) en zullen dagelijks worden geobserveerd op klinische symptomen behorend tot EAE. Tijdens de dierproef zal er regelmatig bloed worden afgenomen. Aan het eind van de studie of wanneer het humane eindpunt is bereikt, worden de dieren geëuthanaseerd waarna het centrale zenuwstelsel wordt onderzocht op de pathologie behorende bij EAE. In de lymfoïde organen wordt de immuunrespons onderzocht en wanneer mogelijk wordt ook gekeken naar de werking van de therapie.

De therapieën moeten aan de volgende criteria voldoen alvorens ze worden getest in het marmoset EAE model,:

1. Het kandidaat medicijn mag niet toxisch zijn in die zin dat het fatale gevolgen kan hebben. Vóórdat het in het aapmodel worden gebruikt moet het eerst uitgebreid *in vitro* (celkweek) of in kleine proefdieren getest zijn op de afwezigheid van toxiciteit.
2. De therapie is in de regel ontwikkeld voor een humaan doel/target, maar zal ook kruisreactief moeten zijn met het doel in de marmoset.

De therapie moet specifiek zijn voor primaten en daardoor niet in een lagere diersoort getest kunnen worden of de therapie kan niet afdoende worden getest in een ander diersoort vanwege het niet-representatief zijn van deze diermodellen voor de specifieke therapie.

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

Een therapie kan meteen in het marmoset EAE model getest worden als er uit eerdere *in vitro* of *in vivo* studies een indicatie is voor een te testen concentratie en toedieningsschema. Indien dit niet het geval is kan er voorafgaand aan een therapie evaluatie eerst een farmacokinetiek en/of farmacodynamiek experiment in marmosets nodig zijn om de dosis en/of toedieningsschema te bepalen.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in de marmoset.
2	Therapie evaluatie in het marmoset EAE model.
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

- Voor bloedafname of toediening van teststof of controle preparaat en gelijktijdige weging worden de dieren uitgevangen. Zij worden voor aanvang van het experiment getraind om vrijwillig mee te werken. Daarnaast worden ze regelmatig gewogen in de thuishooi (vrijwillig na training).
- De toedieningsroute van een teststof of controle preparaat wordt per studie bepaald en is afhankelijk van de aard van de teststof. Tijdens een experiment zal er 1 toedieningsroute worden gebruikt. Afhankelijk van de toedieningsroute zal de teststof of controle preparaat eenmalig of herhaaldelijk worden gegeven. Mogelijke toedieningsroutes zijn intraveneus (i.v.), subcutaan (s.c), intramusculair (i.m), intranasaal (i.n.), oraal, intracisternaal of intracraniaal. Wanneer mogelijk (in het geval van i.v., s.c., i.m., oraal en i.n) zal dit zonder sedatie worden uitgevoerd om het dier het ongerief van sedatie te besparen.
- Na de toedieningen zal zeer regelmatig bloed worden afgenomen. In het geval van farmacokinetiek kunnen dit meerdere kleine bloedafnames zijn (< 200 µl, zonder sedatie) in een bepaalde tijdspanne na de eerste injectie. In het geval van farmacodynamiek, waarbij het effect van het kandidaat geneesmiddel op biologische/immunologische processen wordt bepaald, zullen er grotere bloedafnames (0.5 – 2 ml, onder sedatie) plaatsvinden. Tijdens de bloedafnames zullen de dieren ook worden gewogen en indien nodig worden de dieren ook tijdens het experiment extra gewogen in hun thuishooi.

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

In een farmacokinetiek en/of farmacodynamiek experiment is ieder dier zijn eigen controle. Statistische toetsing vindt plaats door vergelijking van een parameter voor en na toediening van een behandeling. De grootte van een testgroep wordt niet door power analyse bepaald, maar wordt bepaald op basis van ervaringen uit eerdere studies met een soortgelijke therapie. Een testgroep zal in de regel bestaan uit een gelimiteerd aantal dieren (n=2-4 per groep). Farmacokinetiek profielen zijn zeer consistent tussen dieren en een groepsgrootte van twee dieren is uit eerdere studies voldoende informatief gebleken. Het effect van een therapie op biologische processen (farmacodynamiek) omvat meerdere variabelen tussen dieren en vereist daarom groepsgrootte van 3 of 4 dieren, afhankelijk van de therapie en de uitkomstparameters.

B. De dieren

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

Common marmoset (*Callithrix jacchus*), volwassen (> 1,5 jaar), M/V, uit de eigen fokkolonie, n=32

Geschatte aantal studies in 5 jaar: 4. Iedere studie zal worden uitgevoerd met een geschat aantal van 4 marmosets per groep. Indien er twee concentraties van de therapie worden getest, zullen er maximaal 32 marmoset in 5 jaar worden gebruikt.

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.

Dieren die zullen worden gebruikt in de experimenten, zijn mogelijk gebruikt in eerdere studies. Gezien de lange levensduur van deze species kan hergebruik plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1^e van de Wet op de Dierproeven.

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.

Vervanging

Biologicals worden vaak eerst in vitro getest op kruisreactiviteit en bindingscapaciteit met hun doel/target in

marmosets. Hieruit zal enige indicatie komen welke concentratie(s) in de marmoset getest dient te worden. Echter wanneer dit niet voldoende informatie oplevert voor een therapie evaluatie in het EAE model, dient er eerst een farmacokinetiek/farmacodynamiek studie gedaan te worden.

Vermindering

Het uitvoeren van een farmacokinetiek/dynamiek studie zal worden uitgevoerd met een zeer beperkte aantal dieren. Het leidt vooral tot vermindering van het aantal dieren in de daaropvolgende EAE studie. Zo is het bijvoorbeeld dan niet nodig om twee concentraties in een EAE therapie-evaluatie studie te testen, omdat in deze farmacokinetiek/dynamiek studie al de optimale dosis is bepaald.

Verfijning

Er is veel geïnvesteerd in micro-methodes om zoveel mogelijk informatie te krijgen uit een zo klein mogelijk bloedvolume. Daarbij worden voor de marmoset vastgestelde fysiologische grenzen gerespecteerd, namelijk maximaal 1% van het lichaamsgewicht per 4 weken.

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.

Training: De dieren worden voor aanvang van de studie getraind om in de thuishooi op de weegschaal te gaan staan, waardoor de stress van uitvangen wordt voorkomen. De dieren worden getraind om zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken aan invasieve biotechnische handelingen zoals het geven van een verdoving of kleine bloedafnames.

Welzijn: Tijdens de studie zullen de dieren dagelijks worden geobserveerd door gekwalificeerde en ervaren diervverzorgers. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust, of ontlasting, dan wordt de veterinaire hiervan op de hoogte gesteld.

Medicatie: Hoewel pijn, lijden en angst in de regel niet worden waargenomen, kan het voorkomen niet volledig worden uitgesloten. In een dergelijk geval zal in overleg met de dierenartsen adequate medicatie worden vastgesteld.

Kans op nadelige milieueffecten is alleen te verwachten bij de toepassing van genetisch gemodificeerde cellen. Voor dergelijke studies wordt toestemming gevraagd van de autoriteit GGO.

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.

Niet van toepassing.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

De toediening van een teststof kan, afhankelijk van de toedieningsroute, lokale pijn en irritatie veroorzaken. Ongerief van inspuitingsplaatsen zal naar verwachting licht zijn. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts medicatie worden toegepast.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. ongerief door toediening teststof
2. ongerief door sedatie en ontwaken uit sedatie

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. De toediening van een teststof kan, afhankelijk van de toedieningsroute, lokale pijn en irritatie veroorzaken.
2. Voor sedatie moet het dier nuchter blijven. Ook het ontwaken uit sedatie kan vervelend zijn alsmede de temperatuurverlaging tijdens sedatie.

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

1. Alle dieren worden intensief getraind om te wennen aan de experimentele procedures. Ongerief van inspuitingsplaatsen zal naar verwachting licht zijn. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts medicatie worden toegepast.
2. Dieren liggen op een warmtemat ter voorkoming van temperatuurverlaging.

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.

X Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Indien een dier ernstige gedragsafwijkingen (zoals lethargie), ernstig gewichtsverlies, of ziekteverschijnselen gaat vertonen zal in overleg met de veterinaire worden besloten of behandeling nodig is. In geval van ernstige ziekteverschijnselen zal een dier direct uit studie worden genomen en geëuthanaseerd om verder ongerief te voorkomen.

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

Dit is moeilijk in te schatten, maar niet meer dan 10%.

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.

Het cumulatieve ongerief wordt geclassificeerd als matig. Het ongerief wordt vooral bepaald door herhaalde bloedafnames.

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee

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

In sommige gevallen zullen de dieren aan het eind van een studie worden gedood ten einde onderzoek te kunnen doen naar de biologische respons van de teststof op (lymfoïde) organen.

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.

X Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.

1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.

Volgnummer	Type dierproef
2	Therapie evaluatie in het marmoset EAE model.

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.

Dit voorstel omvat het gebruik van een gevalideerd diermodel voor de neurologische ziekte multiple sclerose (MS), namelijk experimenteel geïnduceerde auto-immuun encefalomyelitis (EAE) in de common marmoset (*Callithrix jacchus*, het penseelaapje), ten behoeve van translationeel onderzoek voor therapie ontwikkeling. Voor de EAE studies zullen wij uitgaan van de experimentele opzet zoals die is gebruikt in eerdere succesvol verlopen EAE studies. De twee behandelingsopties zijn: 1. Preventief, behandeling begint voor of gelijktijdig met de ziekte inductie en 2. (Semi-) therapeutisch, behandeling begint na de ziekte inductie.

De dieren worden geïmmuniseerd met rhMOG/IFA of MOG34-56/IFA, afhankelijk van de te testen therapie. Daarbij zal 1 of meerdere groepen dieren de experimentele behandeling krijgen, bijvoorbeeld een kandidaat therapie, en 1 groep een relevant controle preparaat. Wanneer mogelijk zullen de experimenten worden opgezet in beenmerg-chimere tweelingen, welke immunologisch verwant zijn en waarvan historische data laten zien dat de immuunrespons binnen een tweeling meer overeenkomt dan tussen niet-tweelingen.

De primaire uitkomstparameter is de tijd tot het ontwikkelen van de eerst zichtbare symptomen van een verstoorde motorfunctie, namelijk ataxie of blindheid (EAE score 2, zie tabel in J) en de tijd tot het humane eindpunt, verlamming van het onderlijf (EAE score 3.0; zie J). Hiermee kan het doel 'het bepalen van de effectiviteit van een nieuw medicijn' worden behaald. De ervaring leert dat EAE scores ≤ 2 reversibel zijn. Pas vanaf score 2.5 treedt geen spontaan herstel meer op; de ziekte is dan in de chronisch/progressieve fase. Om deze reden wordt score 2.5 als ethisch eindpunt gehanteerd. Score 3 kan in uitzonderlijke gevallen als ethisch eindpunt worden gehanteerd, wanneer de vraagstelling dit vereist en niet beantwoord kan worden met score 2.5.

Verder wordt post mortem gekeken naar de ernst van de pathologie in de hersenen en het ruggenmerg.

Deze kan worden bepaald door post mortem magnetische resonantie imaging (MRI) van het gefixeerde brein. Daarmee kan het totale oppervlak en de ruimtelijke verdeling van de lesies worden bepaald. Vervolgens wordt door histologische analyse de mate en ernst van ontsteking en weefselschade vastgesteld.

Andere parameters kunnen zijn:

1. Verlies van lichaamsgewicht
2. Afwijkende hematologie en bloedchemie
3. Reactie van immuuncellen in bloed en lymfoïde organen op stimulatie met ziekte-relevante antigenen
4. Celtypes in bloed en lymfoïde organen
5. Productie van cytokines in bloed en lymfoïde organen
6. Productie van antistoffen in bloed

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.

- Voor immunisatie zal er soms bloed worden afgenomen voor het maken van getransformeerde B-cellen en/of bepaling van individuele nulwaarden van relevante parameters. Na immunisatie zal regelmatig bloed worden afgenomen voor het bepalen van relevante immuunparameters. Kleine bloedafnames (< 200 µl) worden bij ongesedeerde dieren afgenomen en grote bloedafnames (>0.5 ml) worden uitgevoerd onder sedatie.
- De dieren worden geïmmuniseerd door intracutane injecties op de rug met een emulsie, bevattende recombinant humaan myeline oligodendrocyte glycoproteïne (MOG) met incompleet Freund's adjuvant (rhMOG/IFA) of een rhMOG peptide (34-56) in IFA. Deze handeling wordt elke 28 dagen herhaald totdat een dier EAE score 2 heeft ontwikkeld, met een maximum van 5 immunisaties per dier. Dit gebeurt onder sedatie.
- Voor bloedafname of toediening van de teststof of het controle preparaat en gelijktijdige weging worden de dieren uitgevangen. Zij worden voor aanvang van het experiment voor de vang-methode getraind. Daarnaast worden ze regelmatig ongesedeerd gewogen in de thuishooi (vrijwillig na training).
- De klinische score behorend bij EAE wordt dagelijks gemonitord. Daarbij wordt een standaard score systeem gehanteerd waarmee de gradatie van neurologische defecten wordt vastgelegd.
- De toedieningsroute van teststof of controle preparaat wordt voor iedere studie bepaald en is afhankelijk van de aard van de teststof. Afhankelijk van de toedieningsroute zal de teststof of controle preparaat eenmalig of herhaaldelijk worden gegeven. De start van de toediening is afhankelijk van de teststof en de vraagstelling, soms is dit bijvoorbeeld 1 dag of 1 week voor de immunisatie, soms is dit 3 of meer weken na de immunisatie. Mogelijke toedieningsroutes zijn intraveneus (i.v.), subcutaan (s.c), intramusculaire (i.m.), intranasaal (i.n.), oraal, intracisternaal, of intracraniaal (in het geval van i.v., s.c., i.m., oraal en i.n). Wanneer mogelijk zal de toediening zonder sedatie worden uitgevoerd om het dier het ongerief van sedatie te besparen.

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

Voor experimenten waarin het effect van een nieuwe therapie ten opzichte van een controle preparaat wordt getest is statistische toetsing vereist. Het voor een experiment benodigde aantal dieren zal worden bepaald door middel van power-analyse. Variabelen zijn de verwachte ziekte-incidentie (op basis van historische gegevens >90%) en het verwachte effect van de behandeling.

B. De dieren

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

Common marmoset (*Callithrix jacchus*), volwassen (> 1.5 jaar), M/V, uit de eigen fokkolonie, n=112

Geschatte aantal studies in 5 jaar: 8. Iedere studie zal worden uitgevoerd met een geschat aantal van 7 marmosets per groep (7 controle dieren en 7 dieren per experimentele groep). Dit is afhankelijk van de te testen therapie en de statistische poweranalyse.

Het marmoset EAE model heeft een unieke positie in het translationeel MS onderzoek van ziektemechanismes en behandeling. Vanwege de grote immunologische, klinische en pathologische overeenkomsten met MS is het model een essentiële overbrugging van de brede kloof tussen de knaagdier EAE modellen en de patiënt. Bepalend voor de preklinische relevantie zijn:

1. De huidige sterk verfijnde marmoset EAE modellen zijn gebaseerd op de reactivatie van effector-

geheugen T cellen in het immuunrepertoire van de primate. Dit is mogelijk door de aanwezigheid van herpesvirussen in de marmoset, gelijkend aan de mens. Deze virussen komen niet voor in SPF knaagdieren.

2. De modellen kunnen worden gebruikt voor onderzoek naar de pathogenese en behandeling van progressieve MS; een laat optredende vorm van de ziekte waarvoor nog geen behandeling ontstaat. Het EAE model in marmosets is het enige thans voorhanden model waarin relevante pathologie van progressieve MS is aangetoond.
3. Experimenten gericht op de effectiviteit van nieuwe therapeutische principes in het marmoset EAE model vinden vaak plaats in de laatste fase van het preklinische ontwikkelingstraject. Het therapeutisch middel kan een monoclonaal antistof, een cytokine, oplosbare receptor of een ge-engineerde cel zijn, die ontwikkeld is voor werkzaamheid in de mens. In de meeste gevallen zijn deze middelen alleen actief in nauw aan de mens verwante diermodellen.
4. Tevens is het in de marmoset mogelijk om de werking van een therapie longitudinaal te volgen in bloed en in alle lymfoïde organen aan het eind van de studie.

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.

Er is in principe geen bezwaar tegen hergebruik van marmosets, mits geselecteerde dieren niet zijn behandeld met een product dat kan interfereren met het EAE model of het kandidaat-geneesmiddel dat zal worden getest. Aangezien marmosets na een EAE studie altijd worden opgeofferd voor neuropathologisch en neuroimmunologisch onderzoek is hergebruik van EAE dieren uitgesloten.

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

Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging

Vervanging door in vitro methodes: Multipel sclerose is een ziekte veroorzaakt door complexe interacties tussen het centrale zenuwstelsel en het gehele immuunsysteem. Met de huidige stand van de techniek is het niet mogelijk deze interactie buiten het levende dier te bestuderen. Wel worden biologica vaak eerst in vitro getest op hun capaciteit om aan het beoogde target in de marmoset te binden.

Vervanging door EAE modellen in lagere species. Binnen het neuroimmunologisch onderzoeksveld betreft dat met name SPF muizen en ratten. De huidige sterk verfijnde marmoset modellen, waarbij CFA is vervangen door IFA, zijn gebaseerd op een wezenlijk ander pathogeen mechanisme dan de gebruikte EAE modellen in muis en rat. In de marmoset is EAE het gevolg van de reactivatie van effector-geheugen T cellen die aanwezig zijn in het mature immuun-repertoire van de primate, dat is gevormd door de interactie van genetische factoren met omgevingsfactoren. Met name van belang is de chronisch latente infectie met herpesvirussen verwant aan humaan cytomegalovirus (CMV) en Epstein-Barr Virus (EBV). Deze gekende risicofactoren voor MS zijn afwezig in SPF muizen.

Een tweede reden: De marmoset EAE modellen worden ook gebruikt voor onderzoek naar de pathogenese en behandeling van progressieve MS; een laat optredende vorm van de ziekte waarvoor nog geen behandeling bestaat. Het EAE model in marmosets is het enige thans voorhanden model waarin relevante pathologie van progressieve MS is aangetoond.

Een derde reden: Experimenten gericht op de effectiviteit van nieuwe therapeutische principes in het marmoset EAE model vinden vaak plaats in de laatste fase van het preklinische ontwikkelingstraject. Het therapeutisch middel kan een monoclonaal antistof, een cytokine, oplosbare receptor of een ge-engineerde cel zijn, die ontwikkeld is voor werkzaamheid in de mens. In de meeste gevallen zijn deze middelen alleen effectief in nauw aan de mens verwante diermodellen.

Vermindering

Het effect van een nieuw therapeutisch principe in het model dient in de regel statistisch te worden aangetoond. Het benodigd aantal dieren per groep om de resultaten statistisch te kunnen toetsen zal worden bepaald middels power-analyse. Het minimaal aantal benodigde dieren zal worden gebruikt. Kritische variabelen, zoals ziekte incidentie en spreiding in het ziekteverloop zullen worden gemodelleerd naar eerdere EAE studies. Indien mogelijk zullen meerdere therapeutische groepen een controle groep delen om het aantal dieren te verminderen.

Verfijning

Adjuvant: Een belangrijke storende factor in het EAE onderzoek is de noodzaak om het bacteriële adjuvant CFA te gebruiken. Het eerste nadeel van het gebruik van CFA is dat het ernstige ulceraties veroorzaakt rond de injectieplaatsen in de huid. Een tweede nadeel is dat CFA een autoimmuun-proces activeert waarin de CD4+ T-cel een dominante rol speelt. Er is sterk toenemende twijfel aan de relevantie van dit proces voor MS, waar de auto-immuniteit wordt gedomineerd door de CD8+ T-cel. Een derde nadeel is dat CFA de inductie van een neutraliserende immuunresponse tegen Biologische teststoffen versterkt. De vervanging van CFA door IFA ondervangt al deze nadelen.

Experimentele verfijning: Voor longitudinale monitoring van het immuunproces wordt tijdens een gemiddeld experiment per keer 1 ml bloed afgenomen. Er is veel geïnvesteerd in micro-methodes om zoveel mogelijk informatie te krijgen uit dit beperkte bloedvolume.

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.

Training: De dieren worden voor aanvang van de studie getraind om in de thuishooi op de weegschaal te gaan staan, waardoor de stress van uitvangen wordt voorkomen. De dieren worden getraind om zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken aan invasieve biotechnische handelingen zoals het geven van een verdoving of kleine bloedafnames.

Welzijn: Tijdens de studie zullen de dieren dagelijks worden geobserveerd door gekwalificeerde en competente diervverzorgers. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust, of ontlasting, dan wordt de veterinaire hiervan op de hoogte gesteld.

Medicatie: Hoewel pijn, lijden en angst in den regel niet worden waargenomen, kan het voorkomen niet volledig worden uitgesloten. In een dergelijk geval zal in overleg met de dierenartsen adequate medicatie worden vastgesteld.

Kans op nadelige milieueffecten is alleen te verwachten bij de toepassing van genetisch gemodificeerde cellen. Voor dergelijke studies wordt toestemming gevraagd van de autoriteit GGO.

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.

Niet van toepassing.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

In de MS patiënt wordt soms pijnlijke spasticiteit waargenomen. Dit is tot nu toe niet gezien in EAE studies. maar kan niet voor de volle 100% worden uitgesloten. Wanneer symptomen van pijn worden geobserveerd zal orale of parenterale pijnstilling worden toegediend na overleg met de veterinaire.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. ongerief door toediening van injectie
2. ongerief door sedatie en ontwaken uit sedatie
3. ongerief door klinische symptomen EAE
4. single huisvesting

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. De inspuiting van een kleine hoeveelheid inoculum voor immunisatie kan ontsteking en irritatie geven. De inspuiting van teststof kan, afhankelijk van de plaats van de injectie, lokale pijn en irritatie veroorzaken
2. Voor sedatie moet het dier nuchter blijven. Ook het ontwaken uit anesthesie kan vervelend zijn alsmede de temperatuurverlaging tijdens sedatie.
3. EAE leidt tot symptomen als ataxie, blindheid, paresis en paralyse. Het verlies van neurologische functies kan als stressvol worden ervaren.
4. Marmosets worden normaliter in duo's gehuisvest. Marmosets zijn sociale dieren en alleen gehuisvest zitten kan stress geven. Echter, wanneer een kooimaatje vanwege de ernst van de EAE uit de studie dient te worden genomen, is single huisvesting onontkoombaar. Immers, introductie van een nieuw kooimaatje veroorzaakt stress, waardoor het experiment negatief kan worden beïnvloed.

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

1. Alle dieren worden intensief getraind om te wennen aan de experimentele procedures. Ongerief van inspuitingsplaatsen zal naar verwachting licht zijn. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts medicatie worden toegepast.

2. Dieren liggen op een warmtemat ter voorkoming van temperatuurverlaging
3. Wanneer neurologische defecten worden waargenomen zal de hoogte van de kooi worden verminderd. Dit om te voorkomen dat ze vallen. We werken met een cumulatieve discomfort schaal (zie ook J). Dieren worden geëuthanaseerd wanneer het humane eindpunt is bereikt.
4. Als een dier door omstandigheden (zoals het bereiken van humaan eindpunt van een kooigenoot) gedurende de studie individueel komt te zitten, wordt er geen nieuwe partner geïntroduceerd omdat dit meer stress oplevert dan individuele huisvesting voor de resterende tijd van een studie.

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.

Dieren worden geëuthanaseerd, gevolgd door uitgebreide sectie, wanneer het eindpunt volgens tabel 1 is bereikt, of maximaal 150 dagen na de eerste immunisatie, of wanneer het algemeen welzijn door andere omstandigheden ernstig wordt aangetast. De maximale duratie in tabel 1 is cumulatief. De humane eindpunten voorkomen dat matig ongerief ernstig wordt en daarom is er geen ernstig ongerief in deze dierproef. Door hanteren van deze eindpunten worden de dieren uit studie genomen in een fase waarin de dieren nog steeds zelfredzaam zijn en waarin zelfstandig eten en drinken en het aangaan van sociale interacties in voldoende mate mogelijk blijven.

Tabel 1: Cumulatieve EAE scoringstabel

EAE score	Klinische symptomen	Maximale cumulatieve tijdsduur
0	Asymptomatisch	Eind experiment
0.5	Verminderd alert, veranderd loopgedrag zonder ataxie	20 weken
1	Apathisch (verminderde reactie op externe prikkel, tremor, slechtziend)	10 weken
2	Ataxie (= evenwichtsstoornis), blind	4 weken
2.25	Parese (incomplete verlamming) van 1 ledemaat	7 dagen
2.5	Parese (incomplete verlamming) van 2 ledematen	5 dagen
2.75	Parese (incomplete verlamming) van 3 of 4 ledematen	3 dagen
3.0	Paralyse (complete verlamming) van 1 (hemiplegie) of meerdere ledematen (paraplegie)	2 dagen
4.0	Complete verlamming van 4 ledematen (quadriplegie)	1 uur*

* Dit stadium is nog nooit voorgekomen sinds de invoering van IFA als adjuvant. Indien het toch voorkomt is onmiddellijke actie vereist.

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

Na immunisatie met rhMOG/IFA loopt 100% van de dieren kans deze criteria te halen. Na immunisatie met MOG34-56/IFA loopt >90% van de dieren kans deze criteria te halen. De incidentie in de groep die behandeld wordt met de te testen therapie kan lager liggen als gevolg van de behandeling.

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.

Het cumulatieve ongerief wordt geclassificeerd als matig. Het ongerief wordt bepaald door herhaalde bloedafnames, herhaalde injecties en het ontwikkelen van EAE symptomen.

Indien er geen EAE symptomen optreden, bijvoorbeeld als gevolg van een geslaagde behandeling met de teststof, blijft het ongerief matig als gevolg van de herhaalde bloedafnames en injecties.

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee

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

De dieren worden altijd gedood aan het einde van het experiment. Ten einde onderzoek te kunnen doen naar de pathologie in het centrale zenuwstelsel en de immuun response in de lymfoïde organen is het noodzakelijk de dieren te euthanaseren.

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.

X Ja

Format DEC-advies

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

Herhaling van antwoorden is niet nodig. Indien van toepassing kan verwezen worden naar een bij een eerdere vraag verstrekt antwoord.

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD [REDACTED] 2017881
2. Titel van het project: Evaluatie van therapieën voor de behandeling van multiple sclerose
3. Titel van de NTS: Evaluatie van nieuwe kandidaat-geneesmiddelen voor de behandeling van multiple sclerose
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
 - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: [REDACTED]
 - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
 - e-mailadres contactpersoon: [REDACTED]
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC: 01-03-2017
 - aanvraag compleet: 01-03-2017
 - in vergadering besproken: 09-03-2017 en 12-04-2017
 - anderszins behandeld
 - termijnonderbreking(en) van 16-03-2017 tot 29-03-2017 en van 13-04-2017 tot 24-04-2017
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag: 29-03-2017 en 24-04-2017
 - advies aan CCD: 24-04-2017
7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD.
De aanvrager heeft het projectvoorstel afgestemd met de IvD en het met instemming van de IvD ingediend bij de DEC.

Bij de punten 8 t/m 10 kan worden volstaan met 'n.v.t.' wanneer de betreffende acties niet aan de orde zijn geweest. Bij vragen die gericht zijn op het compleet maken van de aanvraag (aanvullingen achtergrond informatie etc) kan bij punten 8 en 9 worden volstaan met de vermelding van het type vragen en de vermelding dat de aanvraag op de desbetreffende onderdelen is aangepast of dat de antwoorden in de aanvraag zijn verwerkt. Bij vragen die gericht zijn op het verkrijgen van verklaringen voor keuzes die door de aanvrager gemaakt worden, kan niet worden volstaan met het weergeven van de strekking van de antwoorden tenzij de antwoorden volledig in de aanvraag zijn

opgenomen. Als dat het geval is, moet dat in het DEC advies worden benoemd en in de aanvraag inzichtelijk worden gemaakt.

8. Eventueel horen van aanvrager n.v.t.
 - Datum
 - Plaats
 - Aantal aanwezige DEC-leden
 - Aanwezige (namens) aanvrager
 - Gestelde vraag / vragen
 - Verstrek(e) antwoord(en)
 - Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag

9. Correspondentie met de aanvrager
 - Datum: 16-03-2017 en 13-04-2017
 - Gestelde vraag/vragen: Enige tekstuele aanpassingen, aanvullende informatie betreffende het ziektebeeld MS, verduidelijking betreffende het niet geschikt zijn van het EAE model in knaagdieren als mogelijk alternatief, de te gebruiken toedieningsroutes voor de therapie en of de therapie voorafgaande of tijdens de inductie van EAE wordt toegediend, onderbouwing aantal benodigde dieren, humane eindpunten.
 - Datum antwoord: 29-03-2017
 - Verstrek(e) antwoord(en): In het format projectvoorstel dierproeven is informatie toegevoegd betreffende het ziektebeeld MS bij de mens, de oorzaken van MS en pathologische aspecten en behandeling van MS. Tevens is het marmoset EAE model verder uitgewerkt met betrekking tot het uittesten van diverse kandidaat geneesmiddelen, verschillen ten opzichte van het muizen model voor MS, de EAE inductie methode en de immunopathogenese. Ook zijn aanvullende argumenten voor de noodzaak van het gebruik van non-humane primaten gegeven. In Bijlage 1 zijn de te gebruiken toedieningsroutes nader gespecificeerd en is het benodigde aantal dieren verder onderbouwd. In bijlage 2 zijn zowel preventieve als therapeutische toedieningsvormen en humane eindpunten nader uitgewerkt.
 - De antwoorden hebben wel geleid tot aanpassing van de aanvraag

10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC). N.v.t.
 - Aard expertise
 - Deskundigheid expert
 - Datum verzoek
 - Strekking van het verzoek
 - Datum expert advies
 - Advies expert

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig.
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. Is de DEC competent om hierover te adviseren? De commissie heeft voldoende expertise, inbegrepen de immunologie, neurologie, statistische analyse, onderzoek met niet-humane primaten, en toepassing van alternatieven op deze gebieden. Ook is er voldoende expertise op gebied van ontwerp van dierproeven, proefdiergeneeskundige praktijk, het houden en verzorgen van dieren, ethiek en proefdieren en hun bescherming. De DEC heeft ruime ervaring met het beoordelen van onderzoek naar kandidaat medicijnen gericht tegen multiple sclerose in het EAE model in niet-humane primaten.

4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Indien van toepassing, licht toe waarom.
Er waren geen conflicterende belangen bij de beoordeling van dit voorstel.

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft. Het voorgestelde onderzoek bestaat uit twee fasen, te weten 1) vaststellen van de juiste dosering waarin het kandidaat medicijn getest zal gaan worden, door middel van een farmacokinetiek/farmacodynamiek (PK/PD) studie en 2) bepalen van het therapeutisch effect van het kandidaat medicijn in het marmoset EAE model. Medicijnen die getest zullen worden in dit model zijn innovatief en kunnen niet in een andere diersoort worden getest vanwege het niet representatief zijn van die modellen voor de specifieke therapie. De subdoelen sluiten logisch aan bij het hoofddoel en vormen een samenhangend geheel. Het verwachte ongerief voor de dieren is duidelijk omschreven en de uitkomsten van deze experimenten zijn helder en meetbaar. Het aantal dieren is realistisch ingeschat en voor zover mogelijk statistisch onderbouwd. De klinische eindpunten zijn duidelijk gedefinieerd.
2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Wet Natuurbescherming). Er is, zover de DEC kan overzien, geen tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan.
3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Neven doelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel. De aangegeven doelcategorie, te weten 'translationeel of toegepast onderzoek', sluit aan bij het projectvoorstel. In deze projectaanvraag wordt voor nieuwe kandidaat medicijnen tegen multiple sclerose (MS), onderzocht of zij in het marmoset EAE model de ontwikkeling van symptomen kunnen vertragen of voorkomen. Daarnaast kan onderzoek in dit EAE model belangrijke inzichten verschaffen over de overgang van de relapseremissie vorm in de progressieve vorm van MS. Het marmoset EAE model vertoont belangrijke overeenkomsten met MS bij de mens, waardoor de uitkomsten een goede indicatie geven over mogelijke effectiviteit bij de mens.

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld. Het directe doel van het project betreft onderzoek naar de effectiviteit van innovatieve kandidaat geneesmiddelen tegen MS in het marmoset EAE model. Daarnaast wordt verwacht dat dit onderzoek kan leiden tot een beter inzicht in progressie van de ziekte van een relapsing-remitting patroon naar een progressieve vorm. Het uiteindelijke doel is om effectieve medicijnen tegen MS te verkrijgen. MS is een ernstige ziekte met blijvende invaliditeit tot gevolg. De huidige therapieën die ontwikkeld zijn tegen MS werken niet in alle patiënten en hebben veel bijwerkingen. Bovendien hebben ze nauwelijks effect in de progressieve fase van MS. Het marmoset EAE model vertoont wat betreft klinische symptomen, pathologie en betrokkenheid van bepaalde componenten van het afweersysteem grote overeenkomsten met MS bij de mens en de uitkomsten binnen dit model vormen daardoor een goede indicatie voor mogelijke effectiviteit bij de mens. Er is binnen dit project een reële relatie tussen het directe doel en het uiteindelijke doel.
5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de

belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld*). De belangrijkste belanghebbenden in dit translationele project dat gericht is op de ontwikkeling van nieuwe medicijnen tegen MS zijn de te behandelen patiënten, de proefdieren en het onderzoeksveld.

Het belang voor de samenleving is dat de behandeling van mensen met MS verbeterd wordt, door ontwikkeling van meer effectieve medicijnen, die ook in de progressieve fase van de ziekte werkzaam zijn en minder bijwerkingen vertonen. Hierdoor zal de kwaliteit van leven van MS patiënten sterk verbeterd kunnen worden.

Waarden die voor proefdieren in het geding zijn: De integriteit van de dieren zal worden aangetast, de dieren zullen stress ondervinden, ziek worden en soms enige mate van pijn ondervinden.

Het onderzoeksveld krijgt nieuwe informatie die wordt gedeeld d.m.v. publicatie(s). Dit onderzoek kan leiden tot meer inzicht in de factoren die een rol spelen bij het ontstaan van MS en de onderliggende immuun-mechanismen.

6. Is er aanleiding voor de DEC om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken? Er zijn geen substantiële milieueffecten te verwachten binnen de kaders of ten gevolge van dit project.

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe. De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn boven iedere twijfel verheven gezien de wetenschappelijke output, de verworven interne- en externe financiering alsmede de aandacht voor de drie V's.
8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe. De DEC is er van overtuigd dat het projectvoorstel aansluit bij recente wetenschappelijke inzichten en geen hiaten bevat die de bruikbaarheid van de resultaten in de weg zullen staan. De voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters zijn logisch en helder gekozen en sluiten aan bij de aangegeven doelstellingen. De cumulatieve EAE scoringstabel vormt zowel een belangrijk instrument voor het bepalen van de wetenschappelijke uitkomst als het bewaken van de ziekteprogressie en beperken van ongerief. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen naar de mening van de DEC leiden tot het behalen van de doelstelling in het kader van het project.

Welzijn dieren

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

- Bedreigde diersoort(en) (10e, lid 4)
- Niet-menselijke primaten (10e)
- Dieren in/uit het wild (10f)

- Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I richtlijn)
- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e, lid 2)
- Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV richtlijn (13c, lid 3)

Het experiment wordt uitgevoerd met niet-humane primaten, namelijk de common marmoset (*Callithrix jacchus*, penseelaap). De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op de sterke overeenkomsten tussen EAE in de marmoset en MS bij de mens, wat betreft klinische symptomen, pathologie en de componenten van het afweersysteem die betrokken zijn bij de ziekte. Ook de progressieve fase van de ziekte kan in dit model goed bestudeerd worden. De therapieën die worden getest zijn van te voren gekarakteriseerd in *in vitro* en *in vivo* (veelal knaagdieren) modellen. De te testen therapieën zijn gericht op humane target moleculen en daardoor vaak niet zinvol te testen in andere diersoorten.

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. De huisvesting en verzorging voldoet ten volle aan de vereisten in bijlage III.
11. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe. Het ongerief is op basis van ervaring met PK/PD studies en EAE inductie in common marmosets correct als matig ingeschat en wordt veroorzaakt door de experimentele technieken, de vaccinaties voor inductie van EAE en de klinische symptomen van EAE. In combinatie zijn de gevolgen van deze handelingen terecht als matig ongerief ingeschat. Door implementatie van humane eindpunten op basis van een cumulatieve EAE score wordt ernstig ongerief vermeden. Alhoewel incomplete verlamming kan optreden, wordt voorkomen dat dieren niet meer zelfstandig kunnen functioneren met betrekking tot het tot zich nemen van voedsel en drinkwater en het aangaan van sociale interacties. De dieren voor de experimenten zijn speciaal voor dit doel gefokt, en zullen als sociaal compatibel duo worden gehuisvest. Een dier kan door het uit studie nemen van de kooigenoot (ten gevolge van bereiken humaan eindpunt) gedurende een deel van de studie solitair gehuisvest zijn.
12. Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake is van aantasting van integriteit. De integriteit van de dieren wordt aangetast door de dieren te injecteren met teststof en bij een deel van de dieren door inductie van EAE. Bij dieren die in een PK/PD studie gebruikt worden zal deze aantasting van voorbijgaande aard zijn en zullen de dieren in het algemeen geheel terug keren naar hun oorspronkelijke toestand, qua gezondheid en welzijn. In sommige gevallen zullen de dieren aan het eind van de PK/PD studie gedood worden ten einde onderzoek te kunnen doen naar de biologische respons van de teststof. De dieren waarbij EAE wordt geïnduceerd worden gedood aan het einde van het experiment om de neuropathologie te bepalen en de immuun responsen in de weefsels te meten.
13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw beoordeling toe. Naar de mening van de DEC zijn de humane eindpunten zorgvuldig beschreven (gebaseerd op algemene en specifieke criteria) en is de inschatting van de kans dat dieren een humaan eindpunt zullen bereiken adequaat ingeschat. Met behulp van de cumulatieve EAE scoringstabel kan de mate van ongerief zorgvuldig worden ingeschat. Het humane eindpunt wordt bepaald door deze score en kan afhankelijk van de wetenschappelijke vraag worden beperkt tot score 2,5 of in uitzonderlijke gevallen score 3.

14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Er is geen *in vitro* model waarin de bij MS betrokken complexe interacties tussen het centrale zenuwstelsel en het afweersysteem kan worden nagebootst en de werking van nieuwe medicijnen kan worden getest. Nieuwe medicijnen worden vaak eerst *in vitro* getest op kruisreactiviteit en binding aan hun target moleculen. Echter vaak is dan niet duidelijk of de medicijnen hun specifieke doel binnen het organisme zullen bereiken. Daarom is gebruik van proefdieren noodzakelijk. Verschillende diersoorten worden gebruikt voor onderzoek naar MS. Het EAE marmoset model vertoont een dusdanige overeenkomst met MS in de mens dat alleen in dit model behandeling tegen de progressieve vorm van MS getest kan worden. Experimenten in de marmoset vinden vaak plaats in de laatste fase van het preklinische ontwikkelingstraject. Het geneesmiddel is specifiek gericht op de mens en werkt vaak alleen in de mens en non-humane primaten.
15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Licht uw beoordeling toe. De proefopzet wordt telkens gebaseerd op de concrete experimentele vraagstelling. Het aantal te gebruiken dieren per behandelgroep wordt bepaald met behulp van statische powerberekeningen op basis van de verwachte effect grootte en spreiding van de data. Het uitvoeren van een PK/PD studie zal worden uitgevoerd met een zeer beperkt aantal dieren en leidt tot gebruik van minder dieren in de EAE therapie-evaluatie studie.
16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Licht uw beoordeling toe. De uitvoering is verfijnd door gebruik te maken van sociaal gehuisveste dieren die goed aan mensen gewend zijn, de dieren zijn bovendien getraind om mee te werken aan bepaalde dier technische handelingen, waardoor ze minder stress ervaren. Het model is verder verfijnd door vermindering van gebruik van bacteriële adjuvantia voor de ziekte inductie. Ook wordt door optimalisatie van *in vitro* meet methoden de bloedafname zoveel mogelijk beperkt. Sedatie en pijnbestrijding zullen worden toegepast wanneer geïndiceerd. Het ongerief wordt beperkt door toepassing van humane eindpunten, gebaseerd op een cumulatieve EAE scoringstabel.
17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Licht uw beoordeling toe. N.v.t.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd. In onderhavige projectaanvraag worden dieren van beide geslachten gebruikt.
19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Indien van toepassing, geef ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd. Bij PK/PD studies zullen de meeste dieren in leven blijven aan het einde van het experiment. Alleen

indien het effect van de teststof op de organen onderzocht moet worden zullen de dieren worden gedood. De dieren waarbij EAE wordt geïnduceerd worden gedood aan het einde van het experiment om de pathologie te bepalen en de immuun respons in de weefsels te meten. Daarnaast worden dieren ge-euthanaseerd wanneer humane eindpuntcriteria worden bereikt, dit om verder ongerief te voorkomen (zoals gedefinieerd in de projectaanvraag). Er wordt een passende dodingsmethode gebruikt (conform bijlage IV van de richtlijn).

20. Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is. Hergebruik wordt altijd overwogen en ook nagestreefd (binnen de kaders omtrent dierenwelzijn en wetenschappelijke kwaliteit).

NTS

21. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd? Naar de mening van de DEC beschrijft de niet-technische samenvatting het project inhoudelijk correct en in begrijpelijke taal.

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag. Rechtvaardigt het testen van nieuwe geneesmiddelen tegen MS het ongerief dat niet-humane primaten wordt aangedaan? Is het gebruik van niet-humane primaten in dit geval gerechtvaardigd of kan de gewenste informatie ook verkregen worden door het inzetten van andersoortige proefdieren.
2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn, ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende.

De waarden voor de samenleving zijn gelegen in het ontwikkelen van betere medicijnen tegen MS. Naar verwachting leidt dit tot vermindering van de symptomen of vertraging van het ziektebeloop. De voordelen zijn zowel economisch (minder ziekte, minder zorgkosten) als bevorderlijk voor de kwaliteit van leven van de patiënten.

Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en de autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te laten ondergaan. Ze kunnen hierdoor ziek worden en enige pijn ondervinden door bloedafnames en injecties. De dieren ondervinden hiervan matig ongerief.

De waarden voor het onderzoeksveld zijn toenemend wetenschappelijk inzicht in de immunomechanismen die betrokken zijn bij het ontstaan of verergeren van MS en de werking van potentiële nieuwe medicijnen. Omdat niet-humane primaten goed modelleren voor de ziekte MS zullen de resultaten relevant zijn voor MS bij de mens en kunnen leiden tot nieuwe inzichten over deze ziekte. Daarmee levert dit onderzoek belangwekkende resultaten en het is de uitdrukkelijke bedoeling om dit te publiceren.

Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit werk een essentiële bijdrage leveren aan het verkrijgen van nieuwe medicijnen tegen MS die effectiever zijn in het bestrijden van de ziekte en minder bijwerkingen geven. Het verwachte ongerief voor de dieren valt daardoor moreel te

verantwoorden.

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

De DEC concludeert dat de belangen van de samenleving die worden nagestreefd in dit project zwaarder wegen dan de belangen/waarden van de betrokken proefdieren.

Het onderzoek is van groot belang voor mensen met MS omdat het kan resulteren in het beschikbaar komen van medicijnen die de progressie van de ziekte voorkomen en die minder bijwerkingen hebben dan de huidige medicijnen. Daarnaast kan dit onderzoek meer inzicht geven in de factoren die een rol spelen bij ziekte progressie.

De expertise voor het verrichten van deze experimenten is beschikbaar binnen de instelling en bij de betrokken onderzoekers. De kennis en kunde van de aanvragers wordt onderbouwd door eerder onderzoek naar de effectiviteit van geneesmiddelen tegen MS en de vereiste expertise en voorzieningen voor dergelijk onderzoek met niet-humane primaten. Reeds vele jaren wordt er in de instelling onderzoek verricht met het marmoset EAE model. De gekozen strategie voor inductie van de ziekte is in de loop der jaren verder verfijnd. Dit heeft geleid tot een beter diemodel en tot minder ongerief voor de dieren. De keuze voor dit model is gebaseerd op bewezen overeenkomsten met MS wat betreft ziektebeeld en de zeer grote fysiologische en immunologische overeenkomsten met de mens.

De haalbaarheid van de doelstellingen van dit project wordt als hoog ingeschat. De te onderzoeken medicijnen zijn in gevorderde stadia van ontwikkeling. De medicijnen zijn tevoren gekarakteriseerd in *in vitro* en *in vivo* (veelal knaagdieren) modellen. In de laatste fase van de preklinische ontwikkeling is het echter noodzakelijk om de effectiviteit en veiligheid van de kandidaat medicijnen te onderzoeken in een diemodel waarin de aard en verloop van de ziekte, alsmede de responsen van het afweersysteem, grote overeenkomsten vertonen met de mens. Deze medicijnen kunnen niet in andere diere modellen of alternatieve modellen worden getest op therapeutisch effect tegen MS. De effecten (bijvoorbeeld als gevolg van de complexiteit van hun interactie met het zenuwstelsel of de betrokken componenten van het afweersysteem) van de kandidaat medicijnen kunnen in dit diemodel goed worden onderzocht en ook kunnen eventuele nadelige effecten aan het licht komen. Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van deze proefdieren rechtvaardigt.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

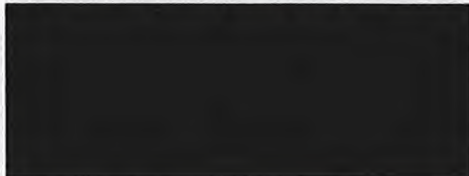
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen.
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
 - Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IVD.
 - Voor de uitvoering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

weten...

- De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
 - De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is om de volgende redenen:...
 - De volgende doorslaggevende ethische bezwaren:...
 - De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...
- 2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een meerderheidsstandpunt, specificiceer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.
- 3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project. Er zijn geen knelpunten ondervonden; de inherente ethische dilemma's zijn hierboven uitgebreid uiteengezet.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag



**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
AVD [redacted] 2017881
Bijlagen
2

Datum 4 mei 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [redacted],

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 1 mei 2017. Het gaat om uw project "Evaluatie van therapieën voor de behandeling van multipale sclerose". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD [redacted] 2017881. 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:
4 mei 2017
Aanvraagnummer:
AVC [REDACTED] 2017881

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:
4 mei 2017
Aanvraagnummer:
AVC [REDACTED] 2017881

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: [REDACTED]
Naam instelling of organisatie: [REDACTED]
Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: [REDACTED]
Straat en huisnummer: [REDACTED]
Postbus: [REDACTED]
Postcode en plaats: [REDACTED]
IBAN: [REDACTED]
Tenaamstelling van het rekeningnummer: [REDACTED]

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

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

Datum:
4 mei 2017
Aanvraagnummer:
AVD [redacted] 2017881

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [redacted]
Functie: Postdoc onderzoeker
Afdeling: Immunobiologie
Telefoonnummer: [redacted]
E-mailadres: [redacted]

Gegevens verantwoordelijke uitvoering proces

Naam: [redacted]
Functie: Afdelingshoofd
Afdeling: Animal Science
E-mailadres: [redacted]

Gegevens gemachtigde

Naam: [redacted]
Postbus: [redacted]
Postcode en plaats: [redacted]

Wilt u een nieuwe machtiging afgeven? Nee

Wat mag de gemachtigde doen?

- Een projectvergunning aanvragen
- Een wijziging op een verleende projectvergunning aanvragen
- Een melding doorgeven op een verleende projectvergunning
- Een bezwaarschrift indienen en daarover communiceren met de Centrale Commissie Dierproeven en alle andere handelingen verrichten die nodig zijn voor een goede afwikkeling van het bezwaarschrift
- Alle bovenstaande opties

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u?

- Nieuwe aanvraag
- Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Over uw project

Geplande startdatum: 1 augustus 2017
Geplande einddatum: 1 augustus 2022
Titel project: Evaluatie van therapieën voor de behandeling van multiple sclerose
Titel niet-technische samenvatting: Evaluatie van nieuwe kandidaat-geneesmiddelen voor de behandeling van multiple sclerose
Naam DEC: [REDACTED]
Postadres DEC: [REDACTED]
E-mailadres DEC: [REDACTED]

Datum:
4 mei 2017
Aanvraagnummer:
AVG [REDACTED] 2017881

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1.287,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: Projectvoorstel
 Beschrijving Dierproeven
 Niet-technische samenvatting

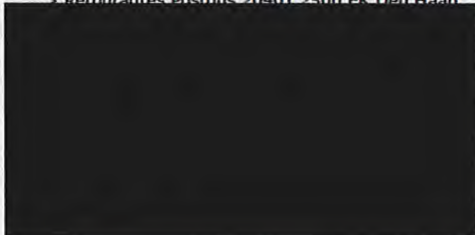
Overige bijlagen: Melding Machtiging
 DEC-advies

Ondertekening

Naam: [REDACTED]
Functie: Adjunct Directeur
Plaats: [REDACTED]
Datum: 1 mei 2017



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag



**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
AVD [redacted] 2017881
Bijlagen
2

Datum 4 mei 2017
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 4 mei 2017
Vervaldatum: 3 juni 2017
Factuurnummer: 170881

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD [redacted] 2017881	€ 1.287,00

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

[REDACTED]

Van: Info-zbo
Verzonden: donderdag 8 juni 2017 13:45
Aan: [REDACTED]
CC: [REDACTED]
Onderwerp: AVD [REDACTED] 2017881: aanhouden beoordelen

Geachte [REDACTED],

Op 01 mei 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluatie van therapieën voor de behandeling van multipale sclerose" met aanvraagnummer AVD [REDACTED] 2017881.

Welke informatie nog nodig

De CCD heeft uw aanvraag besproken en heeft een vraag over uw project:

U gaat een kinetiek studie uitvoeren. U geeft echter niet aan of u voorafgaand aan deze studie Physiologically based pharmacokinetic modelling gaat doen. U wordt verzocht aan te geven of u dit heeft overwogen? Indien u van mening bent dat dit niet mogelijk is, wordt u verzocht dit toe te lichten.

Opsturen informatie

U heeft 14 dagen de tijd om de ontbrekende informatie op te sturen. U kunt deze informatie onder vermelding van het aanvraagnummer (AVD [REDACTED] 2017881) aanleveren via NetFTP of per e-mail.

Wanneer een beslissing

De beslistermijn op uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat bovengenoemde informatie is ontvangen. Na ontvangst van uw reactie nemen wij uw aanvraag verder in behandeling. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Met vriendelijke groet,

[REDACTED]
Namens,

Centrale Commissie Dierproeven www.centralecommissiedierproeven.nl

.....
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag
.....

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl (Let op: nieuw e-mail adres)

Project: **Evaluatie van therapieën voor de behandeling van multipale sclerose**

Aanvraag: **AVD [REDACTED] 2017881**

Geachte leden van de CCD

Uw reactie op het project "Evaluatie van therapieën voor de behandeling van multipale sclerose" met aanvraagnummer AVD [REDACTED] 2017881 is in goede orde ontvangen. Wij willen u bedanken voor de vraag of wij overwogen hebben physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modelling voorafgaand aan de studie uit te voeren. Deze vraag kunnen we bevestigend beantwoorden. Physiologically based pharmacokinetic modelling staat al enige tijd op ons verlanglijstje, echter voor hoogmoleculaire biologische geneesmiddelen (biologicals), zoals monoclonale antistoffen, cytokines e.d. is deze techniek nog niet ontwikkeld. Voor laag moleculaire chemische drugs is de techniek wel ontwikkeld, maar dit type geneesmiddel wordt slechts zeer zelden getest in onze primaten modellen. Wij zijn al in overleg met een binnenlands expertisecentrum op dit gebied om PBPK modellering ook voor biologicals in non-humane primaten te gaan ontwikkelen.



Datum 15-05-2017
Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven
AVD2017881

Advies aan CCD

B

Instelling: 5.1 lid2h
Onderzoeker: 5.1 lid2e
Project: Evaluatie van therapieën voor de behandeling
van multipale sclerose
Aanvraagnummer: AVD2017881
Betreft: Nieuwe aanvraag
Categoriën: Translationeel of toegepast onderzoek

1 Inzicht in aanvraag en de eventuele knelpunten en risico's

Proces	Het Secretariaat heeft de DEC gevraagd te beoordelen dat dieren hergebruikt worden. De antwoorden op deze vraag is nog niet ontvangen.
--------	--

Naam proef	Diersoort	Stam	Aantal dieren	Herkomst
3.4.4.1. Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in de marmoset.				
	Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus)		32	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten
3.4.4.2. Therapie evaluatie in het marmoset EAE model.				
	Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus)		112	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten

Gebruik niet-humane primaten: dit wordt uitgebreid onderbouwd in zowel het projectvoorstel als de bijlage 3.4.4.2.

Hergebruik: Dieren die zullen worden gebruikt in de experimenten, zijn mogelijk gebruikt in eerdere studies. Gezien de lange levensduur van deze species kan hergebruik plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1e van de Wet op de Dierproeven.

Er is in principe geen bezwaar tegen hergebruik van marmosets, mits geselecteerde dieren niet zijn behandeld met een product dat kan interfereren met het EAE model of het kandidaat-geneesmiddel dat zal worden getest. Aangezien marmosets na een EAE studie altijd worden opgeofferd voor neuropathologisch en neuroimmunologisch onderzoek is hergebruik van EAE dieren uitgesloten.

Gebruik van mannelijke en vrouwelijke dieren

- 3.4.4.1. Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in de marmoset. / Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus): Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt.
- 3.4.4.2. Therapie evaluatie in het marmoset EAE model. / Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus): Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt.

Locatie uitvoering experimenten	- Alle proeven vinden plaats in een instelling van een vergunninghouder. - Er zijn geen problemen bekend met de vergunninghouder.
Maatschappij	Er wordt verwacht dat het onderwerp in die mate politiek of maatschappelijk gevoelig is, dat eventuele extra communicatie uitingen nodig zijn. In deze aanvraag wordt onderzoek gedaan met niet-humane primaten (penseelaap).

2 DEC advies

DEC-advies	<p>CITAAT.</p> <p>Het experiment wordt uitgevoerd met niet-humane primaten, namelijk de common marmoset (<i>Callithrix jacchus</i>, penseelaap). De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op de sterke overeenkomsten tussen EAE in de marmoset en MS bij de mens, wat betreft klinische symptomen, pathologie en de componenten van het afweersysteem die betrokken zijn bij de ziekte. Ook de progressieve fase van de ziekte kan in dit model goed bestudeerd worden. De therapieën die worden getest zijn van tevoren gekarakteriseerd in vitro en in vivo (veelal knaagdieren) modellen. De te testen therapieën zijn gericht op humane target moleculen en daardoor vaak niet zinvol te testen in andere diersoorten.</p> <p>Ethische afweging van de DEC:</p> <p>CITAAT.</p> <p>1. Rechtvaardigt het testen van nieuwe geneesmiddelen tegen MS het ongerief dat niet-humane primaten wordt aangedaan? Is het gebruik van niet-humane primaten in dit geval gerechtvaardigd of kan de gewenste informatie ook verkregen worden door het inzetten van andersoortige proefdieren.</p> <p>2. De waarden voor de samenleving zijn gelegen in het ontwikkelen van betere medicijnen tegen MS. Naar verwachting leidt dit tot vermindering van de symptomen of vertraging van het ziektebeloop. De voordelen zijn zowel economisch (minder ziekte, minder zorgkosten) als bevorderlijk voor de kwaliteit van leven van de patiënten. Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en de autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te laten ondergaan. Ze kunnen hierdoor ziek worden en enige pijn ondervinden door bloedafnames en injecties. De dieren ondervinden hiervan matig ongerief.</p> <p>De waarden voor het onderzoeksveld zijn toenemend wetenschappelijk inzicht in de immuunmechanismen die betrokken zijn bij het ontstaan of verergeren van MS en de werking van potentiële nieuwe medicijnen. Omdat niet-humane primaten goed modelleren voor de ziekte MS zullen de resultaten relevant zijn voor MS bij de mens en kunnen leiden tot nieuwe inzichten over deze ziekte. Daarmee levert dit onderzoek belangwekkende resultaten en het is de uitdrukkelijke bedoeling om dit te publiceren.</p> <p>Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit werk een essentiële bijdrage leveren aan het verkrijgen van nieuwe medicijnen tegen MS die effectiever zijn in het bestrijden van de ziekte en minder bijwerkingen</p>
-------------------	---

geven. Het verwachte ongerief voor de dieren valt daardoor moreel te verantwoorden.

3. De DEC concludeert dat de belangen van de samenleving die worden nagestreefd in dit project zwaarder wegen dan de belangen/waarden van de betrokken proefdieren.

Het onderzoek is van groot belang voor mensen met MS omdat het kan resulteren in het beschikbaar komen van medicijnen die de progressie van de ziekte voorkomen en die minder bijwerkingen hebben dan de huidige medicijnen. Daarnaast kan dit onderzoek meer inzicht geven in de factoren die een rol spelen bij ziekte progressie.

De expertise voor het verrichten van deze experimenten is beschikbaar binnen de instelling en bij de betrokken onderzoekers. De kennis en kunde van de aanvragers wordt onderbouwd door eerder onderzoek naar de effectiviteit van geneesmiddelen tegen MS en de vereiste expertise en voorzieningen voor dergelijk onderzoek met niet-humane primaten. Reeds vele jaren wordt er in de instelling onderzoek verricht met het marmoset EAE model. De gekozen strategie voor inductie van de ziekte is in de loop der jaren verder verfijnd. Dit heeft geleid tot een beter diermodel en tot minder ongerief voor de dieren. De keuze voor dit model is gebaseerd op bewezen overeenkomsten met MS wat betreft ziektebeeld en de zeer grote fysiologische en immunologische overeenkomsten met de mens.

De haalbaarheid van de doelstellingen van dit project wordt als hoog ingeschat. De te onderzoeken medicijnen zijn in gevorderde stadia van ontwikkeling. De medicijnen zijn tevoren gekarakteriseerd in in vitro en in vivo (veelal knaagdieren) modellen. In de laatste fase van de preklinische ontwikkeling is het echter noodzakelijk om de effectiviteit en veiligheid van de kandidaat medicijnen te onderzoeken in een diermodel waarin de aard en verloop van de ziekte, alsmede de responsen van het afweersysteem, grote overeenkomsten vertonen met de mens. Deze medicijnen kunnen niet in andere diermodellen of alternatieve modellen worden getest op therapeutisch effect tegen MS. De effecten (bijvoorbeeld als gevolg van de complexiteit van hun interactie met het zenuwstelsel of de betrokken componenten van het afweersysteem) van de kandidaat medicijnen kunnen in dit diermodel goed worden onderzocht en ook kunnen eventuele nadelige effecten aan het licht komen. Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van deze proefdieren rechtvaardigt.

	<p>De DEC heeft extern advies ingewonnen bij - de aanvrager is om aanvullingen gevraagd De DEC heeft de aanvrager vragen gestelde over de volgende onderwerpen: het ziektebeeld van MS, de reden waarom het EAE model in knaagdieren niet mogelijk is, de te gebruiken toedieningsroutes voor de therapie, het tijdstip van toedienen van de therapie, het aantal benodigde dieren en de humane eindpunten.</p> <p>Het DEC advies is Positief</p> <p>Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.</p>
--	--

3 Kwaliteit DEC advies

Kwaliteit DEC-advies	Het DEC-advies is volledig.
	Er zijn geen DEC leden uitgesloten van de behandeling van de aanvraag vanwege onafhankelijkheid of onpartijdigheid.
Het DEC advies is volledig en helder. De DEC geeft alleen niet aan dat er sprake is van hergebruik. De DEC zal hier nog naar worden gevraagd.	

4 Inhoudelijke beoordeling

Belangen- verstremgeling	Geen van de medewerkers van het Secretariaat heeft een arbeidsrelatie gehad met de aanvrager die minder dan 5 jaar geleden is beëindigd of heeft andere belangen die mogelijk zouden kunnen leiden tot oneigenlijke beïnvloeding.
Doelstelling Doelstelling	CITAAT. Het doel van dit project is om de effectiviteit van kandidaat-geneesmiddelen tegen MS te bepalen in het diermodel voor MS, namelijk EAE in de marmoset.

<p>Wetenschappelijk en maatschappelijk belang</p>	<p>CITAAT.</p> <p>Wetenschappelijk: Uit het feit dat een hoog percentage van de kandidaat geneesmiddelen de vertaling van diermodel naar de MS patient niet overleven (> 90% voor RRMS en 100% voor SP en PP MS) blijkt hoe beperkt onze kennis nog is van de onderliggende ziekte mechanismes. Een belangrijke oorzaak is de gapende kloof tussen de in het preklinisch onderzoek gebruikte EAE modellen in SPF knaagdieren en de MS patiënt. Er is dringend behoefte aan een relevant diermodel dat deze kloof kan overbruggen. Het EAE model in de marmoset wordt algemeen beschouwd als een zeer relevante overbrugging, enerzijds vanwege de immunologische overeenkomst met zowel muizen EAE als MS, anderzijds vanwege de grote pathologische overeenkomsten met MS. Onderzoek in het marmoset model kan belangrijke nieuwe inzichten verschaffen in de overgang van de relapsing-remitting naar de progressieve fase van de ziekte, waarvoor op dit moment nog geen enkele effectieve medicatie bestaat.</p> <p>Maatschappelijk: In Nederland leven ongeveer 17.000 mensen met MS, dat is 1 op de 1000 mensen. De ziekte treft vooral jong-volwassenen en is na trauma de belangrijkste oorzaak van neurologische ziekte in jong-volwassenen. MS heeft een sterke impact op de maatschappelijke participatie (werk/sociale contacten). De MS patiënt kan door het toenemend verlies van neurologische functies een aanzienlijk verminderde kwaliteit van leven ervaren. De jaarlijkse kosten voor de zorg en behandeling van de 17.000 MS patiënten liggen tussen 500 en 800 miljoen euro.</p> <p>Medisch: Er is dringend behoefte aan een qua effectiviteit en veiligheid adequate behandeling van MS. De huidige therapieën die ontwikkeld zijn tegen MS werken niet in alle RR-MS patiënten, en zijn niet werkzaam in patiënten met SP-MS of PP-MS. Tevens hebben de huidige therapieën veel bijwerkingen zoals terugkerende infecties waardoor een patiënt moet stoppen met de therapie. Omdat de ziekte een ernstig verloop heeft met blijvende invaliditeit is het zeer belangrijk dat de ontwikkeling van nieuwe therapieën tegen MS blijft doorgaan. Een belangrijk probleem van de SPF muis EAE modellen die thans worden gebruikt voor de selectie van kandidaat geneesmiddelen is de slechte voorspelbaarheid voor succes in klinische trials. Meer dan 90% van de kandidaten sneuvelt in de vertaling van diermodel naar MS patient. De ontwikkeling van technologieën en diermodellen om deze kloof te overbruggen is een topprioriteit in het geneesmiddelen onderzoek. Het marmoset EAE model kan daar aan bijdragen enerzijds door het testen van de effectiviteit van nieuwe medicijnen maar anderzijds ook doordat onderzoek in het model informatie oplevert over de werking van medicijnen.</p>
---	--

Onderbouwing wetenschappelijk en maatschappelijk belang	Voldoende onderbouwd.
Wetenschappelijke kwaliteit Kwaliteit aanvrager/ onderzoeksgroep en onderzoek	De DEC zegt hierover het volgende: De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn boven iedere twijfel verheven gezien de wetenschappelijke output, de verworven interne- en externe financiering alsmede de aandacht voor de drie V's. Het Secretariaat heeft reden hieraan te twijfelen.

3V's

Vervanging

3.4.4.1. Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in de marmoset.: CITAAT.

Biologicals worden vaak eerst in vitro getest op kruisreactiviteit en bindingscapaciteit met hun doel/target in marmosets. Hieruit zal enige indicatie komen welke concentratie(s) in de marmoset getest dient te worden. Echter wanneer dit niet voldoende informatie oplevert voor een therapie evaluatie in het EAE model, dient er eerst een farmacokinetiek/farmacodynamiek studie gedaan te worden.

3.4.4.2. Therapie evaluatie in het marmoset EAE model.: CITAAT.

Vervanging door in vitro methodes:

Multipale sclerose is een ziekte veroorzaakt door complexe interacties tussen het centrale zenuwstelsel en het gehele immuunsysteem. Met de huidige stand van de techniek is het niet mogelijk deze interactie buiten het levende dier te bestuderen. Wel worden biologicals vaak eerst in vitro getest op hun capaciteit om aan het beoogde target in de marmoset te binden.

Vervanging door EAE modellen in lagere species.

Binnen het neuroimmunologisch onderzoeksveld betreft dat met name SPF muizen en ratten. De huidige sterk verfijnde marmoset modellen, waarbij CFA is vervangen door IFA, zijn gebaseerd op een wezenlijk ander pathogeen mechanisme dan de gebruikte EAE modellen in muis en rat. In de marmoset is EAE het gevolg van de reactivatie van effector-geheugen T cellen die aanwezig zijn in het mature immuun-repertoire van de primate, dat is gevormd door de interactie van genetische factoren met omgevingsfactoren. Met name van belang is de chronisch latente infectie met herpesvirussen verwant aan humaan cytomegalovirus (CMV) en Epstein-Barr Virus (EBV). Deze bekende risicofactoren voor MS zijn afwezig in SPF muizen.

Een tweede reden: De marmoset EAE modellen worden ook gebruikt voor onderzoek naar de pathogenese en behandeling van progressieve MS; een laat optredende vorm van de ziekte waarvoor nog geen behandeling bestaat. Het EAE model in marmosets is het enige thans voorhanden model waarin relevante pathologie van progressieve MS is aangetoond.

Een derde reden: Experimenten gericht op de effectiviteit van nieuwe therapeutische principes in het marmoset EAE model vinden vaak plaats in de laatste fase van het preklinische ontwikkelingstraject. Het therapeutisch middel kan een monoclonaal antistof, een cytokine, oplosbare receptor of een ge-engineerde cel zijn, die ontwikkeld is voor werkzaamheid in de mens. In de meeste gevallen zijn deze middelen alleen effectief in nauw aan de mens verwante diermodellen.

Verminderen	
	<p>3.4.4.1. Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in de marmoset.: CITAAT. Het uitvoeren van een farmacokinetiek/dynamiek studie zal worden uitgevoerd met een zeer beperkte aantal dieren. Het leidt vooral tot vermindering van het aantal dieren in de daaropvolgende EAE studie. Zo is het bijvoorbeeld dan niet nodig om twee concentraties in een EAE therapie-evaluatie studie te testen, omdat in deze farmacokinetiek/dynamiek studie al de optimale dosis is bepaald.</p>
	<p>3.4.4.2. Therapie evaluatie in het marmoset EAE model.: CITAAT. Het effect van een nieuw therapeutisch principe in het model dient in de regel statistisch te worden aangetoond. Het benodigd aantal dieren per groep om de resultaten statistisch te kunnen toetsen zal worden bepaald middels power-analyse. Het minimaal aantal benodigde dieren zal worden gebruikt. Kritische variabelen, zoals ziekte incidentie en spreiding in het ziekteverloop zullen worden gemodelleerd naar eerdere EAE studies. Indien mogelijk zullen meerdere therapeutische groepen een controle groep delen om het aantal dieren te verminderen.</p>
Verfijnen	
	<p>3.4.4.1. Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in de marmoset.: CITAAT. Er is veel geïnvesteerd in micro-methodes om zoveel mogelijk informatie te krijgen uit een zo klein mogelijk bloedvolume. Daarbij worden voor de marmoset vastgestelde fysiologische grenzen gerespecteerd, namelijk maximaal 1% van het lichaamsgewicht per 4 weken.</p>
	<p>3.4.4.2. Therapie evaluatie in het marmoset EAE model.: CITAAT. Adjuvant: Een belangrijke storende factor in het EAE onderzoek is de noodzaak om het bacteriële adjuvant CFA te gebruiken. Het eerste nadeel van het gebruik van CFA is dat het ernstige ulceraties veroorzaakt rond de injectieplaatsen in de huid. Een tweede nadeel is dat CFA een autoimmuun-proces activeert waarin de CD4+ T-cel een dominante rol speelt. Er is sterk toenemende twijfel aan de relevantie van dit proces voor MS, waar de auto-immuniteit wordt gedomineerd door de CD8+ T-cel. Een derde nadeel is dat CFA de inductie van een neutraliserende immuunresponse tegen Biologische teststoffen versterkt. De vervanging van CFA door IFA ondervangt al deze nadelen.</p> <p>Experimentele verfijning: Voor longitudinale monitoring van het immuunproces wordt tijdens een gemiddeld experiment per keer 1 ml bloed afgenomen. Er is veel geïnvesteerd in micro-methodes om zoveel mogelijk informatie te krijgen uit dit beperkte bloedvolume.</p>

Wettelijk vereist onderzoek Indien ja, is er sprake van herhaling?	Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.
Hergebruik	Er is sprake van hergebruik van dieren.
3.4.4.1. Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in de marmoset.: CITAAT. Dieren die zullen worden gebruikt in de experimenten, zijn mogelijk gebruikt in eerdere studies. Gezien de lange levensduur van deze species kan hergebruik plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1e van de Wet op de Dierproeven.	
3.4.4.2. Therapie evaluatie in het marmoset EAE model.: CITAAT. Er is in principe geen bezwaar tegen hergebruik van marmosets, mits geselecteerde dieren niet zijn behandeld met een product dat kan interfereren met het EAE model of het kandidaat-geneesmiddel dat zal worden getest. Aangezien marmosets na een EAE studie altijd worden opgeofferd voor neuropathologisch en neuroimmunologisch onderzoek is hergebruik van EAE dieren uitgesloten.	

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
3.4.4.1. Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in de marmoset.	Ja	volgens de richtlijn.
3.4.4.2. Therapie evaluatie in het marmoset EAE model.	Ja	volgens de richtlijn.

Naam proef		
3.4.4.1. Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in de marmoset.	HEP: <10%	CITAAT. Indien een dier ernstige gedragsafwijkingen (zoals lethargie), ernstig gewichtsverlies, of ziekteverschijnselen gaat vertonen zal in overleg met de veterinaire worden besloten of behandeling nodig is. In geval van ernstige ziekteverschijnselen zal een dier direct uit studie worden genomen en geëuthanaseerd om verder ongerief te voorkomen.
Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus)	Ongerief: 100% Matig	
3.4.4.2. Therapie evaluatie in het marmoset EAE model.	HEP: CITAAT. Na immunisatie met rhMOG/IFA loopt 100% van de dieren kans deze criteria te halen. Na immunisatie met MOG34-56/IFA loopt >90% van de dieren kans deze criteria te halen. De incidentie in de groep die behandeld wordt met de te testen therapie kan lager liggen als gevolg van de behandeling.	CITAAT. Dieren worden geëuthanaseerd, gevolgd door uitgebreide sectie, wanneer het eindpunt volgens tabel 1 is bereikt, of maximaal 150 dagen na de eerste immunisatie, of wanneer het algemeen welzijn door andere omstandigheden ernstig wordt aangetast. De maximale duratie in tabel 1 is cumulatief. De humane eindpunten voorkomen dat matig ongerief ernstig wordt en daarom is er geen ernstig ongerief in deze dierproef. Door hanteren van deze eindpunten worden de dieren uit studie genomen in een fase waarin de dieren nog steeds zelfredzaam zijn en waarin zelfstandig eten en drinken en het aangaan van sociale interacties in voldoende mate mogelijk blijven.
Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus)	Ongerief: 100% Matig	

5 Samenvatting

Het projectvoorstel bevat voldoende informatie over het belang van het onderzoek, de strategie, de handelingen die de dieren ondergaan, de 3V's en de humane eindpunten om tot een oordeel te kunnen komen.

In deze aanvraag wordt onderzoek gedaan met niet-humane primaten

(penseelaap). Niet-humane primaten mogen niet in dierproeven gebruikt worden, tenzij door middel van een wetenschappelijke motivering wordt aangetoond dat het doel van de dierproef niet kan worden bereikt door gebruikmaking van dieren behorende tot een andere soort dan een niet-humane primatensoort en de dierproef en het onderzoek wordt verricht met het oog op vermindering, voorkoming, diagnose of behandeling van gezondheidsondermijnende of mogelijk levensbedreigende ziekten bij de mens. In de aanvraag wordt uitgebreid beschreven waarom het wel mogelijk is knaagdieren te gebruiken voor fundamentele onderzoeksvragen, maar niet alle translationele onderzoeksvragen met betrekking tot MS. De aanvrager geeft aan dat waar mogelijk kandidaat-geneesmiddelen eerst of alleen in knaagdieren zullen worden getest. Er zijn volgens de aanvrager echter situaties waarin het marmoset EAE model ingezet moet worden, bijvoorbeeld in de volgende gevallen: Nieuwe geneesmiddelen kunnen met de huidige technologieën steeds specifieker voor de mens worden gemaakt, waardoor ze in knaagdieren hun aangrijpingspunt niet meer herkennen en in apen wel. Ook kan het zijn dat het pathologisch proces waarop de therapie aangrijpt in knaagdier-modellen geen rol speelt of niet aanwezig is, zoals de met lymfocytovirus-geïnficeerde B-cellen of de oxidatieve stress in grijze stof laesies.

Het Secretariaat is van mening dat de aanvrager in voldoende mate heeft onderbouwd waarom voor het behalen van de doelstelling het gebruik van niet-humane primaten nodig is.

De aanvrager beschrijft daarnaast duidelijk op basis van welke criteria besloten wordt welke therapieën in het marmoset EAE model getest zullen worden. Hieruit blijkt dat alleen kandidaat-geneesmiddelen zullen worden getest als de te onderzoeken therapie of specifiek is voor primaten en daardoor niet in een lagere diersoort getest kan worden of niet afdoende kan worden getest in een andere diersoort vanwege het niet representatief zijn van deze diersmodellen voor de specifieke therapie. Verder is al in vitro of in kleinere proefdieren aangetoond dat het kandidaat-geneesmiddel niet toxisch is.

De aanvrager geeft aan met behulp van de criteria voor humane eindpunten ernstig ongerief te voorkomen.

Er is sprake van hergebruik. Dieren die in het verleden niet zijn behandeld met een product dat kan interfereren met het EAE model of het kandidaat-geneesmiddel dat zal worden getest, kunnen ook in dit project worden gebruikt. De aanvrager geeft aan zich hierbij aan de wettelijke kaders omtrent hergebruik te houden. Het Secretariaat ziet hier geen wettelijke bezwaren.

Marmosets zijn sociale dieren en worden in principe in duo's gehuisvest. Echter, wanneer een kooimaatje vanwege de ernst van de EAE uit de studie dient te worden genomen, is single huisvesting volgens de aanvrager onontkoombaar, omdat de introductie van een nieuw kooimaatje stress veroorzaakt, waardoor het experiment negatief kan worden beïnvloed. Het Secretariaat heeft hier geen bezwaar tegen.

Aangezien niet-humane primaten gebruikt worden, moet een beoordeling achteraf plaatsvinden.

6 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning

Het Secretariaat volgt het DEC-advies, maar stelt voor aanvullende algemene voorwaarde(n) te stellen.

Het Secretariaat adviseert dit project toe te wijzen.

Voorstel is om de vergunning te verlenen van 1 augustus 2017 tot en met 31 juli 2022.

Hierbij stelt het Secretariaat voor de volgende voorwaarden te stellen:

Voorwaarden

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

Dit project wordt voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk juli 2023 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.

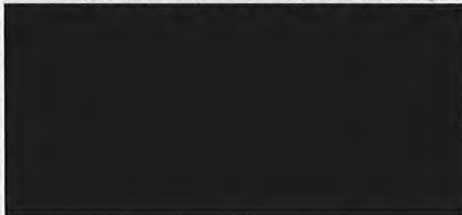
De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat go/no go momenten worden afgestemd met de IvD.

De ingangsdatum van de vergunning kan niet voor de verzenddatum van de beschikking zijn en zal indien van toepassing aangepast worden. Dit is ook het geval bij een voorgenomen besluit.

7 Concept beschikking voor akkoord CCD



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag



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
AVG [REDACTED] 017881
Bijlagen
1

Datum 20 juni 2017
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 1 mei 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluatie van therapieën voor de behandeling van multiple sclerose" met aanvraagnummer AVG [REDACTED] 2017881. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 12 juni 2017 heeft u uw aanvraag aangevuld. Op 8 juni 2017 hebben wij u gevraagd toe te lichten of u overwogen heeft physiologically based pharmacokinetic modellering toe doen. De CCD kan zich vinden in uw toelichting.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning.

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

U kunt met uw project "Evaluatie van therapieën voor de behandeling van multiple sclerose" starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 augustus 2017 tot en met 31 juli 2022. Deze termijn is anders dan in uw aanvraag, omdat een vergunning niet voor langer dan 5 jaar mag worden afgegeven.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Beoordeling achteraf

Na afloop van het project zal er een beoordeling plaatsvinden, zoals bedoeld in artikel 10a1, lid 1d en lid 3, in de wet. Meer informatie over de eisen bij een beoordeling achteraf vindt u in de bijlage.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie [REDACTED] gevoegd. Dit advies is opgesteld op 24 april 2017. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Dit advies van de commissie nemen wij over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld. Het DEC-advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

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.

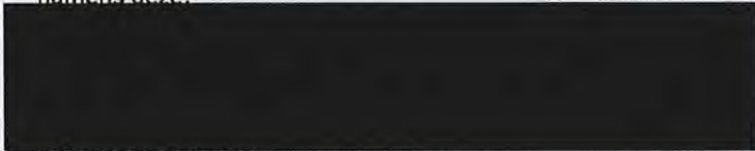
Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

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:
20 Juni 2017
Aanvraagnummer:
AV [REDACTED] 017881

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:



Datum:
20 juni 2017
Aanvraagnummer:
AVG-017881

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:

Adres:

Postcode en plaats:

Deelnemersnummer:

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 augustus 2017 tot en met 31 juli 2022, voor het project "Evaluatie van therapieën voor de behandeling van multiple sclerose" met aanvraagnummer AVD-017881, volgens advies van Dierexperimentencommissie . Er worden aanvullende algemere voorwaarde(n) gesteld.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Afdelingshoofd. Voor de uitvoering van het project is Afdelingshoofd verantwoordelijk.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 1 mei 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 1 mei 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 1 mei 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 24 april 2017, ontvangen op 24 april 2017.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 12 juni 2017

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1. Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in de marmoset.				
	Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus) /	32	100% Matig	
3.4.4.2. Therapie evaluatie in het marmoset EAE model.				
	Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus) /	112	100% Matig	

Voorwaarden

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

Dit project wordt voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk juli 2023 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

Aanvraagnummer:

AVI [REDACTED] 017881

dierproeven conform de vergunning waren.

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

In artikel 10, lid 1 sub a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in afstemming met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.



Aanvraagnummer:

AVI [REDACTED] 2017881

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:

AVI [REDACTED] 017881

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.

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

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.