

Inventaris Wob-verzoek W21-04		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	Documenten 20172425	reeds openbaar	niet	geheel	deels	5.1, lid 1c	5.1, lid 2e	5.2, lid2h	5.1, lid 2
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel				x		x	x	
3	Niet-technische samenvatting oud			x					
4	Bijlage beschrijving dierproeven				x		x	x	
5	DEC-advies				x		x	x	
6	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
7	Verzoek aanvulling aanvraag				x		x	x	
8	Niet-technische samenvatting nieuw	x					x	x	
9	Advies CCD				x		x	x	
10	Beschikking en vergunning				x		x	x	

08 AUG. 2017



Centrale Commissie Dierproeven

## Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

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

### 1 Gegevens aanvrager

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

 Ja > Vul uw deelnemernummer in

 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.  
*Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.*

Straat en huisnummer
----------------------

Postbus
---------

Postcode en plaats
--------------------

IBAN
------

Tenaamstelling van het rekeningnummer
---------------------------------------

- 1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.

(Titel) Naam en voorletters
-----------------------------

Functie
---------

Afdeling
----------

Telefoonnummer
----------------

E-mailadres
-------------

- 1.5 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.

(Titel) Naam en voorletters
-----------------------------

Functie
---------

Afdeling
----------

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 | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie                     |  |
| Afdeling                    |  |
| Telefoonnummer              |  |
| E-mailadres                 |  |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- Ja > *Stuur dan het ingevulde formulier Melding Machtiging mee met deze aanvraag*
- Nee

## 2 Over uw aanvraag

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

## 3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- |            |                |
|------------|----------------|
| Startdatum | 15 - 09 - 2017 |
| Einddatum  | 15 - 09 - 2022 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Investigating the effects of brain stimulation on the neural mechanisms of goal-directed behavior as a guide for deep brain stimulation treatments in psychiatry.
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Cognitieve effecten van diepe hersenstimulatie in het kader van de behandeling van psychiatrische aandoeningen.
- 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 € 1287 Lege € 1035
- 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
- Appendices 1

## 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	[REDACTED]
Plaats	[REDACTED]
Datum	3 - 08 - 2017
Handtekening	[REDACTED]



## Form Project proposal

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

### 1 General information

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

### 2 Categories

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

### 3 General description of the project

#### 3.1 Background

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

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

## Summary

The aim of this project is to understand how Deep Brain Stimulation (DBS) influences cognitive functions and their underlying brain circuits. This knowledge can then be used as a guide to further develop DBS as a more effective treatment for psychiatric disorders. Using a combination of neuroimaging, DBS, electrophysiology, and behavior we will investigate how brain stimulation causally influences clinically relevant cognitive behaviours (i.e., those related to psychiatric symptoms) and their underlying neural activity.

## Psychiatric disorders and Deep Brain Stimulation

In recent years, invasive Deep Brain Stimulation (DBS) has shown great potential as a novel treatment strategy for several psychiatric disorders (Krack et al., 2010; Blomstedt et al., 2011; Holtzheimer and Mayberg, 2011). Deep Brain Stimulation (DBS) is a neuromodulation technique in which specific regions of the brain are electrically stimulated via neurosurgically implanted electrodes, driven by a pulse-generating pacemaker device (Fig. 1A) The technique is broadly applied in the treatment of movement disorders such as those arising from Parkinson's or Huntington's disease (Weaver et al., 2009; Bronstein et al., 2011). The success of DBS for the treatment of movement disorders is largely due to our detailed understanding of the neurocircuitry of motor modulation. Recent advances in understanding the neuroanatomy and neural mechanisms of pleasure, motivation, and reward sensitivity have opened the door for the development of DBS in the treatment of psychiatric disorders such as depression, Obsessive Compulsive Disorder (OCD), or addiction (Krack et al., 2010; Figeo et al., 2011; Koning et al., 2011). At the moment, however, the use of DBS in the treatment of psychiatric disorders is still experimental and there are a lot of open questions about which psychiatric symptoms respond best to DBS, and which brain targets or stimulation settings are optimal (Holtzheimer and Mayberg, 2011). Despite extensive clinical and experimental research (e.g., Denys et al., 2010; Figeo et al., 2011; van Dijk et al., 2011), it remains largely unclear why and how DBS greatly reduces psychiatric symptoms in some patients but has little effect in others (examples of reported efficacies are 58% in OCD (Van Westen et al., 2015) and 40-60% in depression (Bergfeld et al., 2017)).

The ventral striatum is one of several subcortical neural structures that are currently targeted for the treatment of psychiatric disorders (Denys et al., 2010; Koning et al., 2011; Da Cunha et al., 2015). It is part of the basal ganglia and plays a crucial role in reward-motivated behavior and cognitive control (Sesack and Grace, 2009; Humphries and Prescott, 2010). In addition, dysfunction of the ventral striatum is reported in many psychiatric disorders (Graybiel and Rauch, 2000; Figeo et al., 2011; Everitt and Robbins, 2014; Haber and Behrens, 2014). The subcortex, however, is composed of complex and largely uncharted structures, which are extensively connected to a broad range of cortical regions (Averbeck et al., 2014; Forstmann et al., 2017) and clinical electrodes for deep brain stimulation, by design, are not very precise with respect to the volume of neural tissue they affect. Such electrodes typically comprise a number of contact points at different depths along the tip of the electrode (Fig. 1A, inset). After implantation, an extensive fine-tuning period commences in which clinicians deliver stimulation over (sets of) contact points with a range of stimulation strengths and frequencies, searching for a setting that most effectively reduces a patient's symptoms while causing as few as possible side-effects. Sometimes such a setting is found within days, sometimes it takes months, and sometimes it is not found at all. Apart from influencing neural activity in the original target area for implantation, DBS electrodes are furthermore likely to affect passing fiber bundles and hence the distal cortical regions to which they connect (Figeo et al., 2013; Munckhof et al., 2013; Alhourani et al., 2015). Such small deviations in electrode position, estimated to occur in >50% of patients (Munckhof et al., 2013), as well as differences in stimulation amplitude will have relatively large consequences on which brain networks are modulated and, by extension, which cognitive functions are influenced.

To summarize, there is great potential for the application of DBS as a treatment option in psychiatry, but to take full advantage of this potential we need additional knowledge to overcome the following issues:

1. It is currently unknown what brain area should be stimulated to treat a particular psychiatric disorder/symptom.
2. It is currently unknown how the effects of DBS depend on stimulation parameters like amplitude and frequency, and whether this depends on the precise stimulation target.
3. It is currently unknown how different cognitive functions are simultaneously influenced by DBS. Such knowledge is helpful in minimizing unwanted side-effects of DBS.

## Deep Brain Stimulation and reward-based decision-making for goal-directed behavior in Psychiatric Disorders

DBS of subcortical structures has already shown great potential for several psychiatric disorders. DBS of

the ventral striatum, for instance, has yielded success in OCD, depression and addiction (Greenberg et al., 2006; Van Laere et al., 2006; Bewernick et al., 2010; Denys et al., 2010; Figee et al., 2013; Kohl et al., 2014; Schlaepfer, 2015). Many symptoms associated with these disorders fall within the general cognitive theme of reward-based decision-making for goal-directed behavior (in RDoC terms: 'Positive Valence Systems'). For example, a recent study broadly investigated impulsivity, decision-making and reward processing in OCD patients. It reports that such patients are generally overly impulsive, in that they prefer immediate rewards despite future negative consequence and they do not learn from loss (Grassi et al., 2015). Patients suffering from major depression, on the other hand, have been reported to show impaired integration of reinforcement history resulting in an inability to adapt their behavior based on reward (Vrieze et al., 2013).

Subcortical structures like the basal ganglia, together with the (frontal) cortical regions to which they project, are involved in these cognitive functions and often implicated in psychiatric disorders (Fig. 1B). We closely collaborate with a local psychiatric clinic that specializes in DBS treatment. In the clinic, patients are routinely tested on range of cognitive tasks (e.g., reward processing, decision making, impulsivity) in an attempt to characterize their symptoms in basic cognitive terms. By searching for phenomenological patterns in patients' performance and relating this to DBS treatment efficacy, clinicians hope to find predictors and biomarkers that might in the future be used to select patients with the highest chance of successful treatment. This approach can however only provide post-hoc information. Making current DBS treatments more effective by solving which brain areas should be stimulated with what stimulation parameters requires a systematic investigation of the effects of DBS on these basic cognitive functions and their neural correlates. This is not possible in humans as it requires repeated invasive brain stimulation at multiple locations and with different stimulation settings. Electrodes in patients are in a fixed location which severely limits the possibility for systematic investigation. A systematic investigation of the effects of DBS on cognitive functions thus requires an animal model. Because of the clinical relevance of our project, it is partially financed by the psychiatric clinic. We also bilaterally discuss experimental designs in joint research meetings and results will be published in joint scientific publications. This collaboration ensures that the fundamental research is optimally informed by clinical demand and novel insights from fundamental research can be used to guide treatments in the clinic at the shortest possible delay.

We will capitalize on the possibility to monitor the brain-wide neural consequences of DBS by combining it with functional magnetic resonance imaging in animals (fMRI) (Knight et al., 2013; Arsenault et al., 2014; Min et al., 2014) (Fig. 1C,D). This is also only possible in experimental animals because, while patients can be scanned while their DBS system is switched off, clinical DBS systems cannot be switched on and off inside an MRI scanner due to the risk for induction currents and heating of the electrode material. It has therefore remained unknown how DBS targets influence the activity in the cortex and other subcortical structures. In experimental animals, it is much more feasible to combine stimulation and imaging because the stimulator can be kept at a safe distance from the magnetic field (in humans, the pulse generator is implanted under the collar bone), and electrode leads can be better shielded against interference. This greatly reduces the risk for unwanted currents or material heating. Furthermore, we will take all precautions to avoid these unwanted effects by testing the stimulation in a phantom setup before the experiments with monkeys. In our previous work, we have demonstrated the feasibility of this approach (Ekstrom et al., 2008).

Combining brain stimulation and fMRI in macaques requires a sophisticated experimental infrastructure and highly developed technical expertise. There are only a few labs in the world capable of performing such experiments and our laboratory collaborates with international colleagues from the USA, UK, Belgium and China to exchange technical knowledge, experience, and expertise. While these other labs employ comparable experimental techniques, their research questions are different, which is why the behavioural effects of DBS of various "deep" brain structures and the effects on other brain regions is still only poorly understood. Combined with our unique proximity to the psychiatric clinic, this makes our project one of a kind in the world.

#### **Questions to be answered**

Using a combination of DBS and fMRI to assess network activity patterns in awake task-performing monkeys we want to unravel how Deep Brain Stimulation of neural networks, involved in cognitive functions relating to psychiatric disorders, influences brain-wide activity and cognitive behavior. To gather this knowledge, we have the following subaims:

1. Which network of areas of the cortex, basal ganglia and thalamus are activated and which ones are inactivated by DBS? If different locations in deep brain structures are targeted by

DBS, how distinct are the brain-wide networks influenced by DBS at these different locations?

2. How do the brain networks that are modulated by DBS depend on stimulation parameters such as amplitude or frequency of stimulation?
3. Do distinct DBS locations and stimulation parameters give rise to the same or different behavioural effects?

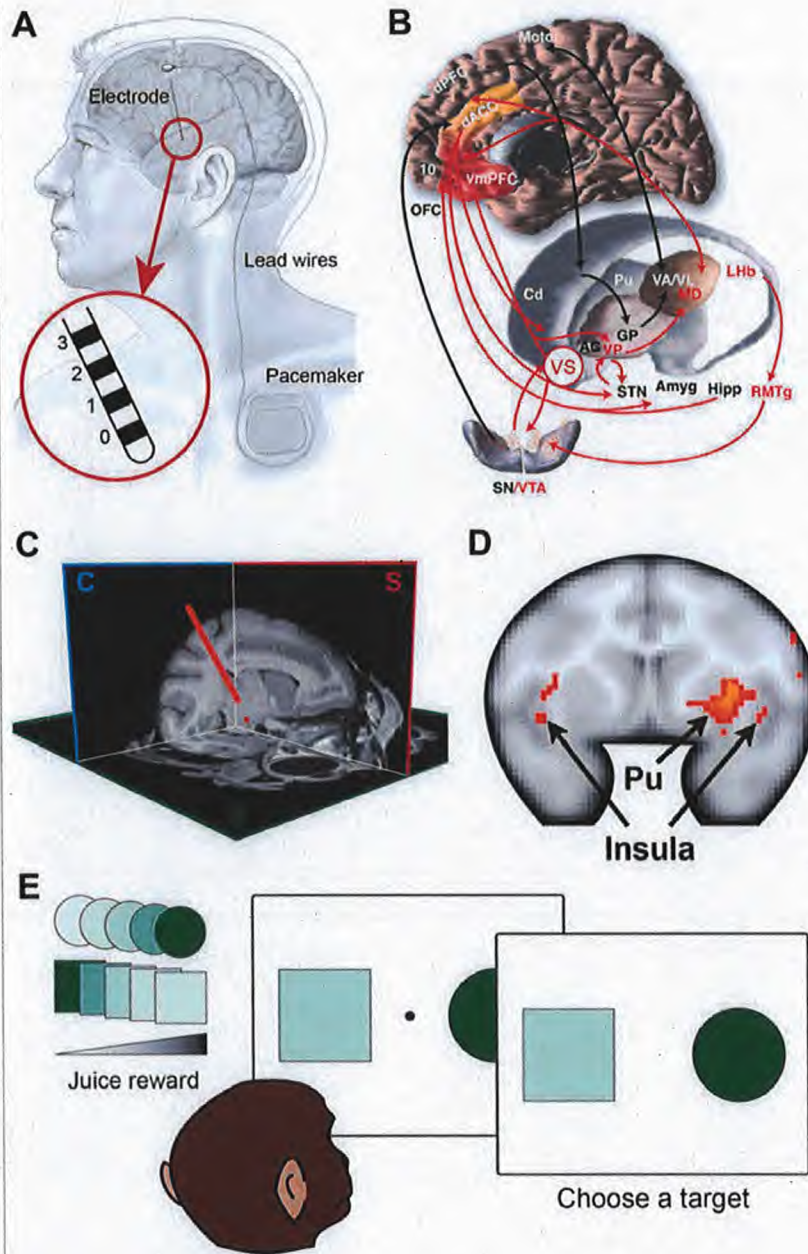


Figure 1. A) Schematic representation of a Deep Brain Stimulation (DBS) implant. A battery-powered pacemaker sends electrical pulses to a stimulation electrode with multiple contact points (inset) through a lead wire under the skin. The active electrode points are situated deep inside the brain to target subcortical structures. B) The reward circuit (red) in the basal ganglia system connects subcortical regions like the ventral striatum (VS) with cortical areas involved in cognitive and motor circuits. (adapted from Haber & Behrens, 2014) C) Electrode trajectory (orange) planning for DBS of the macaque Ventral Tegmental Area (VTA, red dot), based on structural imaging information (adapted from Arsenault et al., 2014) D) Example result from simultaneous DBS and fMRI in a macaque monkey. Stimulation of VTA evoked activation of, amongst other areas, the Putamen (Pu) and Insula. (adapted from Arsenault et al., 2014) E) Example of a cognitive task centred on reward-based decision-making. When the fixation dot in the middle of the screen disappears, the monkey makes an eye movement to one of two targets that each predicts a specific amount of juice reward, contingent upon a combination of colour and shape. In this example, light green squares are associated with more reward than dark green squares, whereas this association is the other way around for circles.

**Outline of our approach:**

We will perform combined DBS-fMRI experiments in healthy macaque monkeys, a species that can be trained to perform complex cognitive tasks. We choose to systematically study the neural mechanisms of DBS in healthy individuals. The reason for this is that psychiatric disorders can be highly heterogeneous with respect to the collection of symptoms that lead to a particular diagnosis and the neurobiological basis of a particular certain symptom is often



unknown. Instead of searching for an animal that emulates one particular symptom, we adopt a recently proposed strategy for psychiatric research and investigate the cognitive functions that are disturbed in a range of symptoms (Insel et al., 2010; Insel, 2014). Current research suggests that apart from some small size differences in several structures, the neural circuitry underlying psychiatric symptoms and their related cognitive functions is very similar in patients, healthy humans and animals (e.g., Norman et al., 2016). Psychiatric symptoms are thought to arise from functional imbalances in otherwise comparable circuits. It is therefore highly informative to know how DBS in a particular brain area influences the balance of neural activity in the entire network, as it might provide handles to restore imbalances observed in psychiatric disorders. To return to the examples of impaired reward-processing in psychiatric disorders given above, we can for instance investigate reward sensitivity by having the animal make a choice between two target stimuli that symbolize a different amount of juice reward. By pairing some stimuli with DBS in certain brain regions we can investigate whether DBS has any immediate reward-modulating effects, and by applying chronic DBS in some blocks of trial we can compare reward sensitivity in the presence and absence of DBS. By changing the 'rules' with which stimulus features such as shape or colour predict the amount of reward, we can investigate reward-based learning (and its dependence on DBS). Impulsivity, in turn, can be probed in a task where an animal is initially presented with reward information but needs to suppress a response because a delayed cue can appear and indicate that a particular response strategy is in fact more rewarding than the initial reward information suggested. In such paradigm, DBS in particular regions of the reward system could make the animal more or less impulsive in its reward-driven choice behavior.

We will use the macaque because the macaque neuroanatomy is highly comparable to that of humans (Haber and Knutson, 2009; Jbabdi et al., 2013; Haber and Behrens, 2014), and their reward-driven cognitive performance is similar to that of humans as well (Rushworth et al., 2009; Haber and Behrens, 2014). Previous studies have demonstrated the feasibility of combining fMRI with cortical stimulation (Ekstrom et al., 2008; Premereur et al., 2016) or with DBS (Arsenault et al., 2014; Min et al., 2014) in this species. We will train the macaques to perform cognitive tasks related to psychiatric symptoms, for instance choosing between two visual targets that are associated with different reward levels (Fig. 1E). They will perform these tasks in the MRI scanner, to reveal the neural networks involved. Finally, by carefully introducing microelectrodes into the (deep) brain regions involved, we can apply very local stimulation and monitor the effects of such stimulation on behavior and neural activity in other parts of the brain (see also Katnani et al., 2016). This can be repeated with electrodes in different locations and with different stimulation settings, resulting in causal maps that can be used as a guide for the clinical development of DBS for the treatment of psychiatric symptoms. We will also record neural activity from the deep brain regions using the same electrodes. Such physiological data could provide valuable information for the development of power-efficient closed-loop DBS implants, for which stimulation is not continuously active, but instead switched on or off based on neural activity (Da Cunha et al., 2015; Gunduz et al., 2015).

The choices we make and the behavior we display in daily life are strongly driven by expected rewards. In neural terms, such reward expectancy and/or the associated pleasure (usually associated with the release of the neuromodulator dopamine) strongly depend on the activity in relatively well-defined 'reward-circuitry' involving the basal ganglia, and their connections with cortex. In healthy humans, there is a sensitive balance between reward-sensitivity and behavioural motivation, but there are numerous psychiatric disorders in which the neural 'reward circuitry' malfunctions. Our approach of simultaneous DBS and fMRI in awake behaving macaques serves a dual purpose. First, stimulating subcortical neural structures while global brain activity patterns are simultaneously being monitored with functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) will enable us to unravel which functional and anatomical networks are modulated by DBS, and under which specific conditions. Combining these functional maps with existing knowledge of both the pathophysiology of psychiatric disorders and the functional neuroanatomy of reward and motivation mechanisms, we aim to provide

crucial information to make the clinical use of DBS for the treatment of psychiatric symptoms much more efficient in the future. Second, by monitoring the effects of direct brain stimulation on global brain activity and cognitive behavior, we will gain fundamental insights into the neural basis of reward sensitivity, motivation, and cognitive flexibility. These findings will complement ongoing research aimed at revealing the neurophysiological processes of decision-making and reward-driven behavior.

Our approach requires a species with comparable neuroanatomy to the human and the ability to perform cognitive tasks that are relevant to the psychiatric symptoms for which these patients are typically treated. While in rodents, the nodes of the relevant neural circuits are similarly interconnected, they are differently located relative to each other. In addition, rodent brains are much smaller than primate brains and their frontal cortex is far less developed, which makes it difficult to translate distal stimulation effects in rodents to the scale of the human brain. While certain aspects of the neurobiology of psychiatric disorders and their interaction with DBS can definitely be studied in rodents, the cognitive and brain-wide consequences of clinically relevant DBS cannot. We actively collaborate with a group in our institute that investigates psychiatric disorders and DBS in rodents. Experimental designs and results are discussed in regular meetings that include clinicians, the rodent research group, and the monkey research group. This unique research environment allows us to optimize our (monkey and rodent) research for clinical relevance and gives the clinicians direct access to the latest research results for further development of treatments.

The research described in this application has already commenced under an earlier DEC-approved protocol, before the new law came into effect. Under this (and another) DEC protocol we have established the infrastructure for fMRI experiments with awake behaving monkeys. We have verified that we can use fMRI in awake monkeys to localize a functional network of brain areas that is activated by visual stimulation and/or the reception of juice rewards. Currently, we are investigating whether we can also unravel more detailed activation patterns using the same technique. As a next step, we will introduce electrical brain stimulation and investigate stimulation-induced activity patterns. Under the current licenses, we are working with two macaques that will both be transferred to the new license after it has been obtained (new working protocols will be submitted). We estimate that to be able to test the effects of DBS in several stimulation targets on several cognitive behaviours, we will need data from at least four animals (an additional 2) due to the expected variability across individuals. Moreover, it could still be possible that results from these animals is contradictory, or that ethical considerations (humane endpoint) require the termination of an animal. In such cases, the acquisition of data from up to five animals may be required. The acquisition of any additional animal (surpassing the initial 4) will be performed in consultation with the institute's Animal Welfare Body (IVD).

#### References

- Alhourani A, McDowell MM, Randazzo M, Wozny T, Kondylis E, Lipski WJ, Beck S, Karp JF, Ghuman AS, Richardson RM (2015) Network Effects of Deep Brain Stimulation. *J Neurophysiol*:jn.00275.2015-24.
- Arsenault JT, Rima S, Stemmann H, Vanduffel W (2014) Role of the Primate Ventral Tegmental Area in Reinforcement and Motivation. *Curr Biol*:1-7.
- Averbeck BB, Lehman J, Jacobson M, Haber SN (2014) Estimates of Projection Overlap and Zones of Convergence within Frontal-Striatal Circuits. *J Neurosci* 34:9497-9505.
- Bergfeld IO, Mantione M, Hoogendoorn MLC., Ruhé HG, Notten P, van Laarhoven J, et al. (2016). Deep Brain Stimulation of the Ventral Anterior Limb of the Internal Capsule for Treatment-Resistant Depression. *JAMA Psychiatry*, 73(5), 456-9.
- Bewernick BH, Hurlmann R, Matusch A, Kayser S, Grubert C, Hadrysiewicz B, Axmacher N, Lemke M, Cooper-Mahkorn D, Cohen MX, Brockmann H, Lenartz D, Sturm V, Schlaepfer TE (2010) Nucleus accumbens deep brain stimulation decreases ratings of depression and anxiety in treatment-resistant depression. *Biol Psychiatry* 67:110-116.
- Blomstedt P, Sjöberg RL, Hansson M, Bodlund O, Hariz MI (2011) Deep brain stimulation in the treatment of depression. *Acta Psychiatr Scand* 123:4-11.
- Bronstein JM et al. (2011) Deep brain stimulation for parkinson disease: an expert consensus and review of key issues. *Arch Neurol* 68:165-165.
- Da Cunha C, Boschen SL, Gómez-A A, Ross EK, Gibson WSJ, Min H-K, Lee KH, Blaha CD (2015) Toward sophisticated

- basal ganglia neuromodulation: Review on basal ganglia deep brain stimulation. *Neurosci Biobehav Rev*:1–25.
- Denys D, Mantione M, Figee M, van den Munckhof P, Koerselman F, Westenberg H, Bosch A, Schuurman R (2010) Deep brain stimulation of the nucleus accumbens for treatment-refractory obsessive-compulsive disorder. *Arch Gen Psychiatry* 67:1061–1068.
- Ekstrom LB, Roelfsema PR, Arsenault JT, Bonmassar G, Vanduffel W (2008) Bottom-Up Dependent Gating of Frontal Signals in Early Visual Cortex. *Science* 321:414–417.
- Everitt BJ, Robbins TW (2014) Drug Addiction: Updating Actions to Habits to Compulsions Ten Years On. *Annu Rev Psychol* 67:150807174122003–150807174122028.
- Figee M, Luigjes J, Smolders R, Valencia-Alfonso C-E, van Wingen G, de Kwaasteniet B, Mantione M, Ooms P, de Koning P, Vulink N, Levar N, Droge L, van den Munckhof P, Schuurman PR, Nederveen A, van den Brink W, Mazaheri A, Vink M, Denys D (2013) Deep brain stimulation restores frontostriatal network activity in obsessive-compulsive disorder. *Nat Neurosci* 16:386–387.
- Figee M, Vink M, de Geus F, Vulink N, Veltman DJ, Westenberg H, Denys D (2011) Dysfunctional reward circuitry in obsessive-compulsive disorder. *Biol Psychiatry* 69:867–874.
- Forstmann BU, de Hollander G, van Maanen L, Alkemade A, Keuken MC (2017) Towards a mechanistic understanding of the human subcortex. *Nat Rev Neurosci* 18:57–65.
- Grassi G, Pallanti S, Righi L, Figee M, Mantione M, Denys D, et al. (2015). Think twice: Impulsivity and decision making in obsessive-compulsive disorder. *Journal of Behavioral Addictions*, 4(4), 263–272.
- Graybiel AM, Rauch SL (2000) Toward a neurobiology of obsessive-compulsive disorder. *Neuron* 28:343–347.
- Greenberg BD, Malone DA, Friehs GM, Rezai AR, Kubu CS, Malloy PF, Salloway SP, Okun MS, Goodman WK, Rasmussen SA (2006) Three-Year Outcomes in Deep Brain Stimulation for Highly Resistant Obsessive-Compulsive Disorder. *Neuropsychopharmacology* 31:2384–2393.
- Gunduz A et al. (2015) Proceedings of the Second Annual Deep Brain Stimulation Think Tank: What's in the Pipeline. *Int J Neurosci* 125:475–485.
- Haber SN, Behrens TEJ (2014) The Neural Network Underlying Incentive-Based Learning: Implications for Interpreting Circuit Disruptions in Psychiatric Disorders. *Neuron* 83:1019–1039.
- Haber SN, Knutson B (2009) The reward circuit: linking primate anatomy and human imaging. *Neuropsychopharmacology* 35:4–26.
- Holtzheimer PE, Mayberg HS (2011) Deep brain stimulation for psychiatric disorders. *Annu Rev Neurosci* 34:289–307.
- Humphries MD, Prescott TJ (2010) The ventral basal ganglia, a selection mechanism at the crossroads of space, strategy, and reward. *Prog Neurobiol* 90:385–417.
- Insel T, Cuthbert B, Garvey M, Heinssen R, Pine DS (2010) Research domain criteria (RDoC): toward a new classification framework for research on mental disorders. *Am J Psychiatry* 167:748–751.
- Insel TR (2014) The NIMH research domain criteria (RDoC) project: precision medicine for psychiatry. *Am J Psychiatry* Available at: <http://ajp.psychiatryonline.org/doi/full/10.1176/appi.ajp.2014.14020138>.
- Jbabdi S, Lehman JF, Haber SN, Behrens TE (2013) Human and Monkey Ventral Prefrontal Fibers Use the Same Organizational Principles to Reach Their Targets: Tracing versus Tractography. *J Neurosci* 33:3190–3201.
- Katnani HA, Patel SR, Kwon C-S, Abdel-Aziz S, Gale JT, Eskandar EN (2016) Temporally coordinated deep brain stimulation in the dorsal and ventral striatum synergistically enhances associative learning. *Sci Rep* 6, 18806.
- Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Merikangas KR, Walters EE (2005) Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry* 62:593–602.
- Knight EJ, Min H-K, Hwang S-C, Marsh MP, Paek S, Kim I, Feilmlee JP, Abulseoud OA, Bennet KE, Frye MA, Lee KH (2013) Nucleus Accumbens Deep Brain Stimulation Results in Insula and Prefrontal Activation: A Large Animal fMRI Study Harel N, ed. *PLoS ONE* 8:e56640.
- Kohl S, Schönherr DM, Luigjes J, Denys D, Mueller UJ, Lenartz D, Visser-Vandewalle V, Kuhn J (2014) Deep brain stimulation for treatment-refractory obsessive compulsive disorder: a systematic review. *BMC Psychiatry* 14:214.
- Koning PP, Figee M, Munckhof P, Schuurman PR, Denys D (2011) Current status of deep brain stimulation for obsessive-compulsive disorder: a clinical review of different targets. *Curr Psychiatry Rep* 13:274–282.
- Krack P, Hariz MI, Baunez C, Guridi J, Obeso JA (2010) Deep brain stimulation: from neurology to psychiatry? *Trends Neurosci* 33:474–484.
- Min H-K, Ross EK, Lee KH, Dennis K, Han SR, Jeong JH, Marsh MP, Striemer B, Feilmlee JP, Lujan JL, Goerss S, Duffy PS, Blaha CD, Chang S-Y, Bennet KE (2014) Subthalamic Nucleus Deep Brain Stimulation Induces Motor Network BOLD Activation: Use of a High Precision MRI Guided Stereotactic System for Nonhuman Primates. *Brain Stimulat* 7:603–607.
- Munckhof P, Bosch DA, Mantione MHM, Figee M, Denys DAJP, Schuurman PR (2013) Active Stimulation Site of Nucleus Accumbens Deep Brain Stimulation in Obsessive-Compulsive Disorder Is Localized in the Ventral Internal Capsule. In: *Stereotactic and Functional Neurosurgery*, pp 53–59. Vienna: Springer Vienna.
- Norman, L. J., Carlisi, C., Lukito, S., Hart, H., Mataix-Cols, D., Radua, J., & Rubia, K. (2016). Structural and Functional Brain Abnormalities in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and Obsessive-Compulsive Disorder. *JAMA Psychiatry*, 73(8), 815–11.
- Premereur E, Taubert J, Janssen P, Vogels R, Vanduffel W (2016) Effective Connectivity Reveals Largely Independent Parallel Networks of Face and Body Patches. *Curr Biol*:1–12.
- Rushworth MF, Mars RB, Summerfield C (2009) General mechanisms for making decisions? *Curr Opin Neurobiol* 19:75–83.
- Schlaepfer TE (2015) Deep Brain Stimulation for Major Depression-Steps on a Long and Winding Road. *Biol Psychiatry* 78:218–219.
- Sesack SR, Grace AA (2009) Cortico-Basal Ganglia Reward Network: Microcircuitry. *Neuropsychopharmacology* 35:27–47.
- van Dijk A, Mason O, Klompmakers AA, Feenstra MGP, Denys D (2011) Unilateral deep brain stimulation in the

nucleus accumbens core does not affect local monoamine release. *J Neurosci Methods* 202:113–118.

van Laere K, Nuttin B, Gabriels L, Dupont P, Rasmussen S, Greenberg BD, Cosyns P (2006) Metabolic imaging of anterior capsular stimulation in refractory obsessive-compulsive disorder: a key role for the subgenual anterior cingulate and ventral striatum. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med* 47:740–747.

van Westen M, Rietveld E, Figee M, & Denys D (2015). Clinical Outcome and Mechanisms of Deep Brain Stimulation for Obsessive-Compulsive Disorder. *Current Behavioral Neuroscience Reports*, 2(2), 41–48.

Vrieze E, Pizzagalli DA, Demyttenaere K, Hompes T, Sienaert P, de Boer P, et al. (2013). Reduced Reward Learning Predicts Outcome in Major Depressive Disorder. *Biological Psychiatry*, 73(7), 639–645.

Weaver FM, Follett K, Stern M, Hur K, Harris C, Marks Jr WJ, Rothlind J, Sagher O, Reda D, Moy CS (2009) Bilateral deep brain stimulation vs best medical therapy for patients with advanced Parkinson disease. *JAMA J Am Med Assoc* 301:63–73.

### 3.2 Purpose

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

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

*The main objective is to understand how deep brain stimulation of neural networks, involved in reward-related cognitive functions, influences brain-wide activity and behavior. Since aberrations in the reward system are commonly observed in psychiatric disorders, such information may be used as a guide for the improvement of deep drain stimulation as a treatment option in psychiatry.*

To gather this knowledge, we have the following subaims:

1. Which network of areas of the cortex, basal ganglia and thalamus are activated and which ones are inactivated by DBS? If different locations in deep brain structures are targeted by DBS, how distinct are the brain-wide networks influenced by DBS at these different locations?
2. How do the brain networks that are modulated by DBS depend on stimulation parameters such as amplitude or frequency of stimulation?
3. Do distinct DBS locations and stimulation parameters give rise to the same or different behavioral effects?

These aims are achievable because:

- 1) The lab has an established primate facility and expertise in performing fMRI and microstimulation studies with awake behaving primates. Many of the techniques required to perform these experiments are already implemented in our lab. We also have ample experience in training monkeys to perform complex cognitive tasks.
- 2) The lab has ongoing collaborations with the psychiatrists that actively use and develop DBS for the treatment of psychiatric disorders. We also collaborate with neurosurgeons that are involved in the DBS for Psychiatry program. They share their experience on implanting human patients with DBS electrodes with us, while our approach and findings are discussed with these clinicians for optimal translational potential.
- 3) The lab has international collaborations with labs where technically similar experiments are performed (stimulation and neuroimaging in macaques). The active exchange of information ensures the use of state-of-the-art research techniques.
- 4) The lab (and others within our institute) has parallel research streams in humans (fMRI and behavior) and rodents (basic neural processing). There is continuous interplay between these different research streams so that hypotheses can be answered using the most appropriate model.
- 5) The lab collaborates with (human) neuroimaging groups that specifically aim to improve the existing knowledge of the subcortex. New imaging protocols that improve the anatomical and functional mapping of deep brain regions will be applied to both humans and macaques to maximize the already substantial translational potential of our work.

- 6) The lab has an outstanding track record of high-impact research which has led to publications in high-ranking international journals (Nature, Science, Nature Neuroscience, Neuron, PNAS, etc.).

### 3.3 Relevance

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

#### Scientific

The pursuit and expectation of reward are important determinants of behavior. The neural machinery of reward information processing includes, among other areas, the basal ganglia and their connections with a diverse set of cortical regions. In health, these mesolimbic pathways maintain a delicate balance that determines reward sensitivity and behavioral motivation. In numerous psychiatric disorders, however, the reward system malfunctions, resulting in behavioral phenotypes such as impulsivity, compulsivity, anhedonia, or addiction. By stimulating highly specific regions of the reward system while recording the consequences of such stimulation on brain-wide activity patterns and cognitive behavior, we will increase our knowledge of what is perhaps the brain's most important task of all: to provide us with a drive to live and to motivate us to behave the way we do. At the same time, these results will shed light on the nature of several cognitive functions that are commonly disturbed in psychiatric disorders and provide handles for novel and/or more refined DBS treatment strategies.

#### Social

Psychiatric disorders like depression, obsessive-compulsive disorder and addiction have a relatively high incidence and a significant proportion of patients is unresponsive to conventional treatment. Apart from their own personal distress (mortality rates in these disorders are high), patients present a severe social and financial burden for their friends, family and society in general (The World Economic Forum estimated the global cost of mental disorders for 2010 at \$2.5 trillion, with a projected global cost of \$6.0 trillion in 2030; Bloom et al., 2011). Improved DBS of the brain's reward and motivation system may help the improve the condition of some of these patients up to a level so that they can regain a normal life.

With a significant proportion (e.g., 10% in OCD; Denys, 2006) of a growing population of psychiatric patients not responding to conventional treatment, there is a great demand for novel methods. The application of DBS for the treatment of psychiatric disorders is a development that had gained great momentum over the past years with promising and encouraging results. The biggest problem with this development, however, is that it is often unclear what neural structures are being stimulated and why some settings of the stimulation parameters are effective while others do not seem to work at all. Our work will precisely map what type of stimulation activates what neural structures and how this stimulation impacts behaviour and cognition. This kind of information is crucial in (further) developing efficient and successful DBS strategies for the treatment of a range of psychiatric disorders.

#### References

- Bloom DE et al. (2011) The Global Economic Burden of Non-communicable Diseases. Geneva: World Economic Forum.  
Denys D (2006) Pharmacotherapy of obsessive-compulsive disorder and obsessive-compulsive spectrum disorders. *Psychiatr Clin North Am* 29:553-584.

### 3.4 Research strategy

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

The main objective of the project is to understand how Deep Brain Stimulation of neural networks, involved in cognitive functions relating to psychiatric disorders, influences brain-wide activity and cognitive behavior. Such information may be used as a guide for the improvement of Deep Brain Stimulation as a treatment option in psychiatry.

We will pursue this aim in experiments in macaque monkeys that we will train to perform cognitive tasks that are designed to probe cognitive functions related to psychiatric symptoms. These tasks can also be performed inside an MRI scanner, allowing us to measure global brain activity while the animal performs the task. Combining functional neuroimaging results with novel structural imaging paradigms will allow us to precisely pinpoint the networks underlying the targeted cognitive functions. The areas of interest for imaging are known nodes of the brain's subcortical and cortical reward-processing circuits, based on previous clinical results with deep brain stimulation and results from cognitive neuroscience. Hence, we can then use DBS to stimulate these relevant areas with a range of stimulation settings and monitor how this intervention impacts both activity throughout the brain and performance on the cognitive tasks. We can furthermore use the same (stimulation) electrodes to record neuronal data from the exact areas we target with stimulation and compare this data to our imaging results. The neurophysiological knowledge we obtain with these measurements can improve our detailed understanding of the neural mechanisms of reward related behaviours and DBS. We anticipate that the resulting functional map of brain stimulation effects will guide the identification of new DBS targets in psychiatry and may also help to improve treatment efficacy using current targets for instance by the development of closed-loop DBS systems, in which stimulation is based on, or modulated by, directly measured neural activity.

With this approach, we address our sub-aims in the following way:

**Subaim 1;** Which network of areas of the cortex, basal ganglia and thalamus are activated and which ones are inactivated by DBS? If different locations in deep brain structures are targeted by DBS, how distinct are the brain-wide networks influenced by DBS at these different locations?

We will first image the monkeys while they perform the cognitive task in the absence of stimulation to identify what brain areas are involved in a particular cognitive function (and measurable with fMRI). Based on these results (and existing knowledge), we can select our stimulation targets and repeat the imaging experiments with DBS in these areas. More detailed knowledge about the neurophysiological properties of the areas targeted with stimulation can furthermore be recorded from the same electrodes used for stimulation.

**Subaim 2;** How do the brain networks that are modulated by DBS depend on stimulation parameters such as amplitude or frequency of stimulation?

The DBS-MRI experiments described under sub-aim 1 will be repeatedly performed with different stimulation parameters to allow a straightforward comparison of the observed modulation of brain activity under different settings.

**Subaim 3;** Do distinct DBS locations and stimulation parameters give rise to the same or different behavioural effects?

By performing these experiments in awake behaving animals, we can simultaneously investigate the influence of DBS on behavior and brain activity as well as its dependence on stimulation location and stimulation parameters.

The combination of the brain-wide modulatory effects of DBS as measured with fMRI, its effects on behavior, and the neurophysiological signatures of the stimulated areas paints a detailed picture of the functional mechanisms of DBS and will provide guidance for improving DBS as a treatment option in psychiatry.

---

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

#### **Type of Animal Procedure 3.4.4.1 Neuroimaging (MRI), Electrical stimulation, and Electrophysiological Recordings**

All the monkeys that take part in experiments at our institute follow a standardized training protocol that takes the monkey from their initial acquisition up to the point where they can perform simple tasks in daily training sessions. These initial stages have been carefully optimized and are often performed by the animal caretakers of the facility. This standardization ensures a very high success rate acclimatizing monkeys to the facility and the training routine. Monkeys are obtained from a national primate center or, in exceptional cases, from licensed importers if there are no suitable animals available at the primate centre. They are socially housed in the facility, typically in pairs. After acclimatization to the new environment the monkeys are trained to move into a primate chair that allows them to be moved comfortably from their home-cage to the experimental set-up. Once the animal can quietly sit in the chair, in a sphynx position necessary for fMRI (Vanduffel et al., 2001), for periods of >1 hour, the animal undergoes a surgery to implant a head-post. The head-post is a small rod attached to the skull of the animal and it used to fixate the head of the monkey during training and later experimental recordings. This is an essential step because we train the monkey to control its eye position and these measurements are only possible if the monkey's head is fixed. Furthermore, fMRI measurements are highly susceptible to movement and reliable imaging sessions require as little movement as possible. After recovery from the head-post surgery the animal is acclimatized to having its head fixated in the chair. Most monkeys adapt very quickly to this step. The monkey then begins daily training sessions in which he acquires juice rewards for performing simple eye-movement- or hand-movement-based tasks. Initially the tasks are very simple, such as lifting a button when a bar on the computer screen changes orientation. During this process, the animal will be placed on a controlled fluid uptake regime. Gradually, the difficulty of the tasks is increased by making the bar smaller until the animal can maintain its gaze on the location on a computer screen. The animal is then taught to make eye-movements towards visual targets on the screen. These initial stages can take anywhere from a few months up to a year. At this point, the animal is ready to be transferred to the specific experimental procedures where it performs more complex perceptual or cognitive tasks (see also the FlowChart document for details on the timeline).

We will use Magnetic Resonance Imaging (MRI) to map which brain areas involved in the tasks the monkey is performing. Once an animal has reached adequate performance levels in basic tasks, we will start imaging brain activity. With structural scans, we will gather the detailed anatomical information that is necessary to plan electrode placement and co-register functional data. We will also develop and perform Diffusion Tensor Imaging (DTI) scans to visualize the structural connectivity between areas. These detailed structural scans will largely be performed under anaesthesia because they are extremely sensitive to distortions as a result of head motion. Functional scans, which are much faster and therefore less sensitive to motion artefacts, will also be done with awake, behaving animals. We will start with basic visual tasks to validate the imaging results against well-established knowledge of brain function (a high-contrast visual stimulus, for instance, activates visual cortices and subcortical structures involved in visual processing). When the imaging quality is satisfactory, we will move to the more complicated tasks designed to probe the neural networks of interest (go/no go moment). We expect that this stage of the project will take up to six months.

Functional brain activity can be measured with either the Blood Oxygen Level Derived (BOLD) signal, or with the contrast-enhanced Cerebral Blood Volume (CBV) signal. The two signals measure largely the same thing, but the signal-to-noise-ratio (SNR) of CBV is approximately three times higher than that of BOLD (Vanduffel et al., 2001; Leite et al., 2002; Mandeville, 2012). Unlike BOLD, however, CBV requires an intravenous injection of a contrast agent prior to scanning. We will use a contrast-agent approach whenever suitable to reduce the number of experimental sessions needed to obtain reliable data.

In the next part of the experiment, we will investigate the causal role of certain brain areas on brain-wide activity and cognitive behavior through electrical stimulation. Once we have established that a monkey's imaging results and performance on the cognitive tasks are good, and we have obtained the structural scans required for the planning of electrode placement (go/no go), we will design and implant a maximum of two recording/stimulation chambers that will allow acute, or semi-chronic, recording or stimulation of the underlying neural tissue. The choice for one or two stimulation chambers depends on the brain areas we plan to stimulate based on neuroimaging results. If these areas can be reached from a single chamber we will only implant one. If, however, some areas require a significantly different point or angle of entry into the brain it is possible that they cannot be reached from the same chamber. In such cases, and if space permits, we will implant two chambers. If this requirement is known before the first chamber is implanted, both chambers will be implanted in the same procedure. We will initially leave the cranium intact when we place the recording chamber. We then plan the required electrode trajectory towards the target area, make a craniotomy in the recording chamber, and lower electrodes into the brain with an MRI compatible microdrive on a daily basis, which is a routine procedure in the lab. Lowering the electrode only causes mild discomfort when the electrode crosses the dura, since the brain itself does not contain any pain receptors. Usually, an animal does not show any signs of discomfort as a result of an electrode passing the dura, but if it does we apply a light local anaesthetic to the dura mater to prevent any discomfort. With electrodes in the target area, we can then either stimulate or record through these electrodes. Stimulation effects on cognitive behavior can be measured outside of the scanner, whereas neural consequences of stimulation can be obtained using stimulation in conjunction with fMRI or neurophysiological recordings. We will also perform combined stimulation-fMRI without a task to reveal the causal relationship between the target area and other brain areas. The electrodes we will use typically have a diameter that is about 5 to 10 times smaller than the clinical electrodes used in humans (<250µm). This does not only allow us to more precisely stimulate small volumes of neuronal tissue, it also greatly reduces the potential tissue damage caused by bringing an electrode into the brain. Similar electrodes are commonly used in neurophysiological studies that extracellularly record the activity individual neurons (also in our lab). In such studies, electrodes are usually entered into the brain on a daily basis. If this is carefully done, tissue damage is minimal and the same brain area can typically be recorded from for months. By repeating our experimental cycle with slightly different stimulation locations (accessible through the same chamber(s)) and slightly different stimulation parameters (e.g., frequency or amplitude) we will create a functional map of stimulation effects on brain activity and behavior. Different stimulation locations can either be along the same electrode trajectory, which only requires small displacements of the existing electrode in depth, or along a new trajectory which would require re-entry of an electrode into the brain. We will monitor the state of the tissue through the effectiveness of stimulation, neurophysiological recordings, and structural MRI (while the tissue immediately surrounding an electrode will not be visible on an MRI scan due to the susceptibility artefact caused by the electrode, scans in the absence of an electrode can readily be used to inspect the state of the tissue). Depending on initial imaging results, this part of the project can take anywhere from six months to four years.

### References

- Leite FP, Tsao D, Vanduffel W, Fize D, Sasaki Y, Wald LL, Dale AM, Kwong KK, Orban GA, Rosen BR, Tootell RBH, Mandeville JB (2002) Repeated fMRI using iron oxide contrast agent in awake, behaving macaques at 3 Tesla. *NeuroImage* 16:283–294.
- Mandeville JB (2012) IRON fMRI measurements of CBV and implications for BOLD signal. *NeuroImage* 62:1000–1008.
- Vanduffel W, Fize D, Mandeville JB, Nelissen K, Van Hecke P, Rosen BR, Tootell RB, Orban GA (2001) Visual motion processing investigated using contrast agent-enhanced fMRI in awake behaving monkeys. *Neuron* 32:565–577.

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



The different components described above logically follow from each other (see Flowchart document) in the sense that all animals undergo the standardized training protocol, followed by an imaging stage in which we identify the brain areas involved in our cognitive tasks and select the areas we will consequently stimulate and/or record from. Together they are aimed at understanding the effects of DBS on cognitive functions derived from psychiatric symptoms, and their underlying neural circuits.

After the initial stage of the project in which we image animals while they perform cognitive tasks in the absence of DBS, there is a clear go/no-go selection moment. We can only record the neural consequences of DBS if we are able to acquire sensible imaging data from an animal, and we can only investigate the behavioural effects of DBS if an animal is capable of performing the relevant cognitive tasks. We will not proceed to performing experiments with DBS if these conditions are not met.

There is overlap between the animal studies described in this project and those in earlier DEC-approved protocol ("Neural Mechanisms of Deep Brain Stimulation"), before the new law came into effect. After a license for this project has been obtained, all proposed experiments will formally be executed under this new license and new study protocols will be submitted to the IvD to replace the current DEC protocols. Animals that are already involved in this project under earlier DEC-protocols ( $n=2$ ) are included in the total number of animals required for this project. In the studies under these previous licenses, we also aim to combine electrical brain stimulation with imaging and behavior to map the neural and behavioural consequences of such brain stimulation. The aims of these studies thus contribute to the aims of the current CCD application. In the ongoing studies, we have established the infrastructure for fMRI experiments with awake behaving monkeys. We have verified that we can indeed use fMRI in awake monkeys to localize a functional network of brain areas that is activated by visual stimulation and/or the reception of juice rewards. Currently, we are investigating whether we can also unravel more detailed activation patterns using the same technique. As a next step, we will introduce electrical brain stimulation and investigate stimulation-induced activity patterns. The two animals that are currently involved in this project have been implanted with a headpost only (no intracranial implants). They are both healthy and cooperative, and there have not been any complications in their training.

We estimate that to be able to test the effects DBS in several stimulation targets, we will need data from at least four animals (an additional 2, compared to the ongoing study) due to expected variability in cognitive behaviour, anatomical accessibility of stimulation targets, and efficacy of stimulation. In neurophysiological studies with non-human primates, experiments commonly comprise only two animals. However, in such experiments, data is usually obtained from a large number of individual neurons or recording electrodes (for instance on a Utah array), a level of detail that is inaccessible to fMRI. Human neuroimaging studies generally include 10-20 participants that are scanned once or twice. Monkey neuroimaging studies, on the other hand, usually report results from between 2 and 5 animals that are each scanned numerous times to obtain reliable results. Several recent monkey fMRI studies investigating global brain networks (Ortiz-Rios, et al. 2017; Sliwa & Freiwald, 2017), reward processing (Chau, et al. 2015), and microstimulation effects (Petkov et al., 2015) all report results from four animals. Even though the novelty of our study makes it difficult to predict variability and effect sizes, we estimate that we will also be able to obtain reliable results with four animals. However, it could still be possible that results from these animals are contradictory, or that ethical considerations (humane endpoint) require the termination of an animal. In such cases, the acquisition of data from an additional animal may be required. If these circumstances arise, the acquisition of an additional animal will be performed in consultation with the institute's Animal Welfare Body (IvD). We have examined the use of monkeys in our lab over the past 10 years and found that in 4 out of 18 electrophysiology projects an additional monkey was required (22% chance). It remains difficult to estimate whether these odds will be similar for neuroimaging studies, but we have no a priori reason to expect them to be any

different.

### References

- Bergfeld IO, Mantione M, Hoogendoorn MLC., Ruhé HG, Notten P, van Laarhoven J, et al. (2016). Deep Brain Stimulation of the Ventral Anterior Limb of the Internal Capsule for Treatment-Resistant Depression. *JAMA Psychiatry*, 73(5), 456–9.
- Chau BKH, Sallet J, Papageorgiou GK, Noonan MP, Bell AH, Walton ME, & Rushworth MFS. (2015). Contrasting Roles for Orbitofrontal Cortex and Amygdala in Credit Assignment and Learning in Macaques. *Neuron*, 87(5), 1106–1118.
- Ortiz-Rios M, Azevedo FAC, Kuśmierk P, Balla DZ, Munk MH, Keliris GA, et al. (2017). Widespread and Opponent fMRI Signals Represent Sound Location in Macaque Auditory Cortex. *Neuron*, 93(4), 971–983.e4.
- Petkov CI, Kikuchi Y, Milne AE, Mishkin M, Rauschecker JP, & Logothetis NK (2015). Different forms of effective connectivity in primate frontotemporal pathways. *Nature Communications*, 6, 6000.
- Sliwa J, & Freiwald WA (2017). A dedicated network for social interaction processing in the primate brain. *Science*, 356(6339), 745–749.
- van Westen M, Rietveld E, Figeo M, & Denys D (2015). Clinical Outcome and Mechanisms of Deep Brain Stimulation for Obsessive-Compulsive Disorder. *Current Behavioral Neuroscience Reports*, 2(2), 41–48.

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

Serial number	Type of animal procedure
1	Neuroimaging (MRI), Electrical Stimulation, and Electrophysiological Recordings
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



## Format

### Niet-technische samenvatting

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

### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Titel van het project Cognitieve effecten van diepe hersenstimulatie in het kader van de behandeling van psychiatrische aandoeningen.
- 1.2 Looptijd van het project 5 jaar
- 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) Diepe hersenstimulatie, cognitie, psychiatrie, MRI, beloningsverwerking

### 2 Categorie van het project

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

### 3 Projectbeschrijving

- 3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)
- Diepe hersenstimulatie (DHS) is de neurochirurgische ingreep waarbij een of enkele elektroden in de hersenen worden ingebracht om diep gelegen hersengebieden elektrisch te kunnen stimuleren. DHS heeft zich de laatste jaren ontwikkeld tot een veelbelovende nieuwe behandelmethode voor een aantal psychiatrische aandoeningen, in het bijzonder obsessieve-compulsieve persoonlijkheidsstoornis (OCS) en depressie.
- Bij sommige patiënten resulteert DHS in het verminderen of zelfs verdwijnen van de psychiatrische symptomen. Bij een belangrijk deel van de patiënten werkt de behandeling echter niet of onvoldoende. Dit komt onder andere omdat we niet goed weten waar in de hersenen precies gestimuleerd moet worden om specifieke symptomen aan te pakken, en wat voor soort

	stimulatie (sterkte – pulsduur – frequentie) we precies toe moeten passen.
	In dit project willen we door proeven met resusapen in kaart brengen wat de effecten zijn van DHS op hersenactiviteit en op aspecten van gedrag die vaak verstoord zijn bij psychiatrische aandoeningen. Voor het onderzoek brengen we in de hersenen van de apen elektroden aan waarvan we de exacte positie kunnen veranderen om op die manier de effecten van stimulatie in meerdere gebieden te testen.
3.2	<p>Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?</p> <p>De kennis die we op deze manier verkrijgen draagt bij aan het begrip van de relatie tussen hersenfunctie en die gedragsaspecten die vaak verstoord zijn in psychiatrische aandoeningen. Doordat we met behulp van hersenstimulatie direct inzicht krijgen in welke rol bepaalde hersengebieden spelen bij deze gedragsaspecten levert dit onderzoek aanknopingspunten op om de behandeling van dergelijke stoornissen sterk te verbeteren.</p> <p>We verwachten op deze manier in de komende vijf jaar voldoende inzicht te krijgen in de effecten van DHS op cognitief gedrag om het gebruik van deze methode bij de behandeling van psychiatrische patiënten sterk te verbeteren. Hiermee krijgt een groep patiënten die alle conventionele behandelmethode al zonder succes heeft geprobeerd (ongeveer 10%) toch weer uitzicht op een normaal leven.</p>
3.3	<p>Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?</p> <p>Voor deze experimenten gebruiken we in vijf jaar tijd maximaal vijf resusapen.</p>
3.4	<p>Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?</p> <p>Negatieve gevolgen voor het welzijn van proefdieren zijn 1) ongerief als gevolg van de chirurgische ingrepen ,verricht onder volledige anesthesie en met adequate pijnbestrijding, 2) stress tijdens het aanleren en uitvoeren van de taken.</p>
3.5	<p>Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?</p> <p>Voor de resusapen wordt het cumulatieve ongerief, veroorzaakt door de verschillende operaties onder anesthesie, als matig geclassificeerd. Dit ongerief is telkens van korte duur. De tijd dat een aap taken uitvoert, is het ongerief te beoordelen als licht, veroorzaakt door de gereguleerde vloeistofinname en het vastzitten tijdens de metingen, gedurende twee à drie uur per dag en vijf dagen per week.</p>
3.6	<p>Wat is de bestemming van de dieren na afloop?</p> <p>Een deel van de dieren kan participeren in andere proeven of kan na de proef met pensioen (zie het NCad advies over herplaatsing: <a href="https://www.ncadierproevenbeleid.nl/adviezen-ncad/documenten/rapport/2016/5/17/ncad-advies-herplaatsing">https://www.ncadierproevenbeleid.nl/adviezen-ncad/documenten/rapport/2016/5/17/ncad-advies-herplaatsing</a>). Hergebruik of herplaatsing is afhankelijk van de doelstelling van de specifieke proef. Wanneer we inzicht willen krijgen in de mogelijke schadelijke effecten van diepe hersenstimulatie op het hersenweefsel wordt de aap gedood om de hersenen te kunnen onderzoeken onder de microscoop.</p>

## 4 Drie V's

4.1	<p><b>Vervanging</b> Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.</p> <p>Om de interacties tussen verschillende hersengebieden en hun relatie met gedrag in detail bloot te leggen, moeten gedrag en hersenactiviteit tegelijk worden gemeten en beïnvloed. Het gebruik van celculturen, of van diersoorten lager dan zoogdieren, zal daarom niet leiden tot het bereiken van onze doelstelling.</p> <p>Knaagdieren zijn in dit specifieke geval ook niet geschikt omdat de anatomische organisatie van de voor dit onderzoek relevante hersengebieden anders is dan bij mensen. Om de door dit onderzoek</p>
-----	--

zichtbaar gemaakte effecten van DHS te kunnen 'vertalen' naar de menselijke anatomie en om te zetten in aanbevelingen voor verbetering van -behandelmethodes in de psychiatrische kliniek, is een sterke overeenkomst in anatomische organisatie cruciaal. Onderzoek met knaagdieren zal wel worden gedaan om de rol van specifieke neurotransmitters of bepaalde celtypen in de effecten van DHS te onderzoeken.

Omdat we systematisch willen onderzoeken hoe DHS in verschillende hersengebieden de hersenactiviteit en het gedrag beïnvloedt, moeten we de elektroden op verschillende locaties in de hersenen plaatsen. Vanwege de risico's die dit met zich meebrengt is het niet verantwoord dit onderzoek te doen met gezonde vrijwilligers. Het is ook niet mogelijk dit onderzoek te doen bij patiënten die al een DHS-systeem hebben, omdat die elektroden niet verplaatst kunnen worden. Bovendien willen we de veranderingen in hersenactiviteit als gevolg van DHS direct meten met MRI-technologie, wat betekent dat we willen stimuleren in een sterk magneetveld. Ook dit is niet mogelijk bij patiënten met een DHS-systeem, omdat dat systeem werkt op een geïmplanteerde batterij. Deze factoren, gevoegd bij het feit dat de hersenstructuur van de resusaap erg op die van de mens lijkt, bepalen de keuze voor dit proefdier.

Waar mogelijk maken we ook gebruik van niet-invasieve methoden zoals MRI, EEG en psychofysica in (gezonde) mensen, maar deze metingen zijn slechts aanvullend, omdat ze ons niet in staat stellen de effecten van DHS systematisch te meten.

#### 4.2 **Vermindering**

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

Door de verwachte variatie in gedrag, hersenanatomie en effectiviteit van de stimulatie verwachten we metingen te moeten doen bij ten minste vier dieren. Soms is het nodig meer dieren te testen (tot een maximum van vijf), bijvoorbeeld als een resusaap een bepaalde taak niet kan leren of als er duidelijke verschillen blijken te bestaan tussen de resultaten van onderzoek met de eerder geteste dieren.

#### 4.3 **Verfijning**

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

Alle procedures (inclusief de huisvesting van de resusapen) zijn erop gericht het ongerief voor de dieren zoveel mogelijk te beperken. Er is veel bekend over de hersenen van de resusaap en dit proefdier is het enige waarbij de hersennetwerken voor bijvoorbeeld beloningsverwerking voldoende lijken op die van de mens om de effecten van DHS goed te kunnen onderzoeken.

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

1) We beperken de hoeveelheid stress zoveel mogelijk door de apen geleidelijk te laten wennen aan alle aspecten van de gedragstaken.

2) De dieren worden getraind via een regime met gecontroleerde vochtopname. Ze krijgen de benodigde hoeveelheid vocht tijdens de training. We hanteren een zorgvuldig protocol om negatieve effecten van de gecontroleerde vloeistofopname te voorkomen. In onze ervaring en bevestigd door een onafhankelijke dierenarts leidt dit protocol tot gering ongerief en zijn er geen negatieve gevolgen voor de gezondheidstoestand.

3) Alle operaties worden uitgevoerd onder anesthesie door personen die goed zijn opgeleid en een ruime ervaring hebben. Na de operaties worden pijnstillers gebruikt om postoperatieve pijn te voorkomen.

4) De dieren worden sociaal gehuisvest in tweetallen in een verrijkte

omgeving, om zo het ongerief van het leven in een kooi te beperken en om de cognitieve vermogens te verbeteren. Indien aan het einde van de proeven de dieren moeten worden gedood, gebeurt dit onder volledige anesthesie.

## 5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen




## Appendix Description animal procedures

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

### 1 General information

1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.

██████████

1.2 Provide the name of the licenced establishment.

██

1.3 List the serial number and type of animal procedure.

Serial number	Type of animal procedure
3.4.4.1	Neuroimaging (MRI), Electrical Stimulation, and Neurophysiological Recordings

*Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.*

### 2 Description of animal procedures

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

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

This appendix describes neuroimaging and electrophysiological procedures that, together, are aimed at mapping brain areas involved in specific cognitive functions, investigating the causal effects of electrical stimulation within these areas on global brain activity and behaviour, and recording neuronal activity patterns of the stimulation target areas during the same cognitive tasks.

Our approach entails the following steps: 1) using neuroimaging to reveal which brain areas are involved in cognitive functions derived from psychiatric symptoms, and 2) investigate how brain activity and cognitive behaviour are influenced by different types of electrical stimulation with the involved regions. The fundamental knowledge obtained with this approach will guide future treatment of psychiatric disorders with (deep) brain stimulation methods. At the same time, it will improve our understanding of the neural basis of goal-directed behaviour (an umbrella term that covers many cognitive aspects commonly dysfunctional in psychiatric disorders).

To achieve this goal, monkeys will be trained to perform cognitive tasks, while we image their brain activity with an MRI scanner. These tasks can for instance require the animal to choose between targets associated with different reward levels by making hand- or eye-movements. As a second step, we will implant the animals with recording/stimulation chambers that will allow us to electrically stimulate areas targeted with DBS and monitor their neuronal activity directly. By combining the stimulation with fMRI and behaviour, we will obtain a rich data-set on the (causal) relation between brain activity and cognition that could guide future psychiatric treatment using brain stimulation.

The primary outcome parameters are:

- i) The behaviour of the animal. The animal will be trained to perform complex cognitive task such as making reward-based decisions based on visual stimuli. Changes in behaviour as a function of brain stimulation provide important insights in the causal relation between the brain regions affected by stimulation and behaviour.
- ii) Neuroimaging data. BOLD or contrast-enhanced CBV data measured with fMRI indicates which brain regions are involved in a particular task. Projecting these functional activity patterns onto structural information obtained with different scan-sequences in the same animal paints a detailed picture of this task-related neural substrate. Moreover, in stimulation experiments, the same functional data will indicate which parts of the brain are influenced by electrical stimulation.
- iii) Neural activity recorded from the stimulation electrodes. We will examine the link between neural activity recorded from areas selected for stimulation and the cognitive tasks performed by the monkey.

All monkeys involved in this project will be acquired and acclimatized to the primate facility at our institute. They will undergo initial structural anatomical scans to check for obvious brain anomalies and to guide the design of the surgical implants. It is critical for the success of these experiments that the monkey's head is held stationary during imaging, stimulation, and neurophysiological recordings. MRI is highly susceptible to movement artefacts, and our behavioural measures require precise measurement of the animal's eye position, which is impossible if the head is moving. The animal will be implanted with an MRI-compatible head-post which allows the head of the monkey to be fixed in the experimental set-up. The monkey then begins daily training sessions in which he acquires juice rewards for performing simple eye-movement- or hand-movement-based tasks. Initially the tasks are very simple, such as lifting a button when a bar on the computer screen changes orientation. During this process, the animal will be placed on a controlled fluid uptake regime. Gradually, the difficulty of the tasks is increased by making the bar smaller until the animal can maintain its gaze on the location on a computer screen. The animal is then taught to make eye-movements towards visual targets on the screen. Training will take place in a simulated MRI environment to gradually accustom the animal to performing their task inside a scanner-bore.

After the monkey has reached a sufficient level of performance on these basic tasks, the animal will resume with more complex cognitive tasks, e.g., making choices between visual targets associated with different amounts of juice reward. In parallel, the animal will also be slowly habituated to the sound of an MRI-scanner, the handling procedures involved in injecting a contrast agent, wearing ear plugs for protection against MRI-noise, and the MRI recording situation. Once trained on all these aspects of an imaging experiment, the animals will perform their tasks inside the MRI scanner, while we record global activity. In additional sessions under anaesthesia, we will acquire fine-grained structural imaging data required for the interpretation of the functional data.

Once the neuroimaging experiments have been set up and initial fMRI data is available, we implant a recording/stimulation chamber that will allow us to target multiple specific brain regions with electrodes for stimulation and neurophysiological recording. The choice of these regions will depend on the results of the fMRI experiments, existing knowledge of psychiatric disorders and brain function, as well as practical considerations such as which brain areas can be reached from the recording/stimulation chamber(s). The animal will then perform cognitive tasks while we electrically stimulate relevant brain regions with a range of stimulation settings (e.g., frequency and amplitude). Outside the scanner, this will allow us to investigate if and how stimulation affects behavioural performance. Repeating this approach inside the scanner will furthermore reveal the brain-wide activity patterns associated with these stimulation effects. Recording neural activity allows investigation of the activity patterns associated with the cognitive tasks in the same structure, but with more detail, and will complement the fMRI recordings.

---

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

An overview of the procedures and the associated discomfort is presented in the flow chart

#### **Acquisition and housing**

Monkeys will be obtained from a licensed breeding facility. In all cases, we will first try to obtain our animals from a national primate centre. Only under exceptional circumstances (no monkeys available at



the primate centre) we will get them from a licensed importer. Monkeys will be housed in the primate facility of our institute. All animals are male and typically between 3-5 years of age when they arrive. This is the age at which young male monkeys typically leave their social group. We typically acquire two cage-mates together and these are then pair-housed for 3-4 weeks in a cage in isolation from the other monkeys (for quarantine reasons). When the results of viral and bacteriological tests are shown to be negative we can, if desired, pair these monkeys with established members of the group. We consult an ethologist from a national primate centre who advises us on appropriate pairings. This can be desirable to form stable pairings or larger groups (if social character of the animals allows it). Our facility contains large cages and the monkeys will have access to a floor-to-ceiling play cage, which allows them to climb and swing. The play cage also contains a 'look-out' platform where the monkeys can view other monkeys in the facility. The environment will be enriched with toys (e.g. boxes filled with nuts or sweets, which the monkeys can fiddle out) and access to natural daylight. A TV screen shall be running in front of the cages during the day. A logbook will be maintained individually for each of the monkeys, carefully monitoring their general appearance, their eating behaviour, weight, and the performance during the training sessions.

### **Acclimatization**

*Discomfort: Mild or none*

The monkeys will be adapted to the animal housing facility and the staff. This includes but is not limited to an initial period in which the animal will be housed with a partner, will receive daily food treats from the staff, and will have access to toys in his cage and television. Previously acquired monkeys in the facility have successfully undergone this period of adaptation and interact well with the staff and do not exhibit signs of stress due to their environment. During this period, the monkey will receive a CT and MRI scan (see below). During one of these procedures the monkey will be fitted with a collar.

### **CT scanning**

*Discomfort: Mild (recovery from brief anaesthesia), once per animal (unless complications require re-assessment)*

A CT scan may be obtained to allow 3D models of the monkey's skull to be constructed. These are used to custom design surgical implants which perfectly fit the skull of the animal. The monkey is anesthetized in its home cage, and then transferred to the CT scanner. The scanning procedure lasts less than 5 minutes. The monkey is then returned to his home-cage, and he is allowed to recover from anaesthesia. The total duration of the procedure is approximately 30 minutes. When there are no complications, this procedure will only take place once per animal. Occasionally, in the event that an implant comes loose, we may perform a further CT scan to assess the state of the underlying bone.

### **MRI scanning**

*Discomfort: Mild (recovery from brief anaesthesia), once per animal (unless complications require re-assessment)*

Structural MRI scans are obtained to check whether the brain has any anatomical anomalies, and to localize specific brain structures and plan surgical implants. The monkey is anesthetized in its home cage and then transferred to the MRI facility. The anatomical scan lasts approximately 15-20 minutes, after which the monkey is returned to his home-cage, and allowed to recover. If there are no complications, this procedure will only need to be performed once per animal.

### **Chair training**

*Discomfort: Moderate the first 1-2 times, none after this.*

The collar will be used to gently pull the monkey into the primate chair. Food and liquid rewards will be used in order to classically condition the monkey to enter the chair. Once learnt, the monkeys usually get into the primate chair voluntarily and rapidly. Once this behaviour is acquired, the animal will initially be rewarded with fruit or fruit juice for sitting quietly in the chair for short periods of time. The head of the monkey is not fixated at this stage. The time spent in the chair will gradually be increased as the animal becomes ever more comfortable and will be adjusted according to the animal's behavioural reaction.

**Surgery: Head-post implantation**

*Discomfort: Moderate for 1-2 days, becoming mild for 2-3 days.*

All surgeries are performed in the purpose-built primate operation room within the primate facility of our institute. Specialist anaesthetic equipment is available and the surgeries are performed by trained staff. In order to head fix our monkeys during training, a head-post is attached to the skull. After induction of anaesthesia, an incision is made in the skin, and the skin is gently pulled aside, exposing the area of the skull above the cortex. The head-post is attached and the skin is sutured closed. Analgesics are given during the surgery. The duration of the procedure is approximately 1-2 hours.

At the end of the surgery, the animal is monitored and kept warm while waking up. Additional analgesics are given during the recovery period. Following the surgery, training will be discontinued for at least four weeks so that the animal may recuperate. During this time, the head-post will become solidly fixed to the animal's skull.

**Head-fixation training**

*Discomfort: Mild (but decreasing after 1-2 times), approximately 1 week*

The animal will receive food and juice rewards for sitting quietly in the chair with their head fixated via the implanted head-post. The amount of time spent fixated in the chair will increase progressively and will be modulated according to the behavioural reaction of the individual animal. Once the animal quietly sits in the chair with his head fixed for a sufficient period of time (0.5 hours), the animal will begin training on the basic experimental tasks. This step usually takes about a week, with the discomfort of the procedure being mild for the first one or two times that the animal is fixated, and lower after this.

**Behavioural training on basic tasks**

*Discomfort: Mild*

To motivate monkeys to perform their task, they are placed on a fluid control regime (described below). During training, the monkey is presented with sensory stimuli and responds with an eye movement and/or hand movement. We use positive reinforcement to train the animals, correct responses are followed by a fluid reward and the animals are allowed to work until satiated. The size of the reward is individually determined and is adapted throughout the training session to ensure that the monkeys remain motivated to work. No negative reinforcement is used, incorrect trials are typically followed by a lack of reward, and in some cases a small 'timeout' (5-10 s) may be given. As the monkeys learn the paradigm and their performance increases, we gradually make the task more challenging. Task difficulty is adjusted to ensure that the monkeys are able to obtain their full fluid ration during the training session. During the training periods, animals are typically in the setup 5 days per week, 1-4 h per day (typical is 2-3 h). Training on the initial tasks takes between 2-6 months depending on the monkey. An example of a training task is to have the monkey direct their gaze to a very small region of a computer screen for 1 s (known as 'fixation'). The difficulty of the task slowly increased by gradually decreasing the size of the area that the animal must fixate upon while slowly increasing the duration of the fixation. At the end of the training period the animal is expected to be able to fixate in a 1° diameter window for at least 400 ms and perform delayed saccade-tasks. A saccade is a very rapid eye-movement that monkeys and humans make approximately 3 times per second to direct the eyes to objects of interest. In a delayed-saccade task the animal must wait for a 'go' cue (e.g. the fixation dot changes colour) before making his eye movement. Most animals are also trained to make hand-movements in response to particular visual stimuli during the training period. The duration of this training period varies from 1 to 6 months depending on the aptitude of the monkey. In our experience, all monkeys are able to learn these tasks within 6 months.

**Controlled fluid uptake**

*Discomfort: Mild, during all training and recording phases (up to 4.5 years, with breaks as outlined below)*

To motivate the animals to work their access to fluid is controlled. The main reason why we use controlled fluid uptake is that we need to obtain a sufficiently large number of trials per session, for two reasons. First, we need reliable measures of the animals' perception of visual stimuli and the choice preference. Accurate measures of perception and of choice preference demand a large number of trials. Second, we obtain a larger number of trials to study the activity of neurons. The activity of neurons is inherently stochastic, i.e. the responses of a cell to repetitions of the same stimulus are variable, a

stochasticity that is inherent to proper brain function. Third, we need a sufficient number of trials to measure the effects of DBS on other brain structures. Controlled fluid access is by the far the most common method to motivate animals to perform cognitive tasks. We note that only healthy and cooperative monkeys that are at ease will perform these tasks in which they make eye or arm movements. Alternative methods have been explored as described by a workgroup for the British NC3R centre (National Centre for Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research) (Prescott et al., 2010). These alternatives comprise 1) positive reinforcement with fruit juice, without controlled fluid uptake; 2) food-based reinforcement; 3) electrical stimulation of reward centres in the brain. We use all three of these techniques, but none of them can replace controlled fluid uptake. Reinforcement with juice in the absence of controlled fluid uptake works well in the early stages of training when training sessions are short and tasks simple, but it is insufficient to motivate the animal to perform more difficult tasks or a larger number of trials. Food reinforcement with treats like raisins or peanuts is used in our lab to reward an animal for compliant behavior (for instance, for coming to the correct compartment of the cage to interact with a researcher). It can also be used as reinforcement for short and simple tasks at the start of training. However, animals satiate quickly when rewarded with food and chewing movements cause artefacts in our recordings, which makes this type of reinforcement unsuitable for sessions that require many trials and precise recording of neural activity. Electrical stimulation of reward centres (Bichot et al., 2011) is used as an experimental variable in this particular project and can therefore not also be used as a replacement for controlled fluid uptake.

Controlled fluid uptake is thus the only viable method available to obtain sufficient numbers of trials to be able to reliably measure behavior and neural activity. We implement controlled fluid uptake in a gradual fashion that adapts the level of fluid control to the behavior of each individual. We begin with positive reinforcement using fruit juice without any controlled fluid uptake. We only use fluid control regimes if the animal is not sufficiently motivated to perform the task with no fluid control. We gradually introduce the fluid control with the aim to have the animals drink as much fluid as possible and the fluid control is only made stronger if necessary. Nevertheless, in the majority of animals it is necessary to restrict access to fluid to some level to obtain enough trials on the complex behavioural tasks described in the application. Our aim is to allow the animal to drink fluid during performance on the cognitive task until they are satiated. This is achieved by:

- The difficulty of the task is adjusted on each day so that the animal is able to receive fluid at a high rate, motivating him to work for many trials, and drink enough fluid in total.
- The rate of fluid delivery is slowly increased during a training session to ensure that the animals drinks throughout the session.
- If the training session has to be aborted, for example due to a technical fault or non-cooperative behaviour of the animal, then the animal receives fluid equivalent to the average intake during a training session.
- We investigate the preferences of each animal for particular rewards e.g. apple juice, different types of fruit syrup, or water, and use a reward that is appealing to the animal

We take a number of measures to prevent dehydration:

- The monkeys always receive a minimum of 100 ml of fluid each day. If this amount is not reached during the training session, it is supplemented.
- Averaged over a three-day period, the animals must receive a minimum of 35 ml per kilogram metabolic weight per day, this number is based on recommendations by the British N3CR (National Centre for the Replacement, Refinement, and Reduction of Animals in Research) and the primate facility of UC Davis. For example, a 10 kg animal must receive a minimum of:  $100.75 \times 35 = 197$  ml of fluid per day, averaged over the previous three days. If this average is not achieved, the animal is supplemented with fluid. This is a minimum amount and the animals typically receive much more fluid than this.
- Fluid intake, both received during training and supplemented in the cage, is logged in an electronic system accessible by researchers, caretakers and inspectors.
- The animal is provided with fruit after the training session, the liquid content of the fruit is not counted towards the minimum amount.

- During breaks in the training schedule of more than two days the monkey receives a full water bottle of at least 700 ml, animals over 15 kg receive an extra bottle. If the break is only one day, then the animal receives an amount of fluid equal to what it would typically receive during a training session.
- While the animal is under fluid control the researchers and animal caretakers monitor its appearance and behaviour carefully every day, with checks by the animal caretakers during the weekend. We weigh the monkey before and after training and compare the weight to the average weight during the last week. The weight is also checked over longer intervals to prevent a slow loss of weight. We check the monkey for any signs of dehydration such as reduced skin tension, sunken eyes, either increased or reduced activity, dry faeces. If any of these welfare criteria is abnormal, the monkey is taken out of training and provided with ad libitum access to fluid until it has recovered. In that case, the Animal Welfare Body will be informed so that they can check the animal. These criteria (weight, fluid consumed per day) are logged in an electronic system for each monkey so that the history is accessible.
- The animal receives a non-working period once every 9 weeks (on average over a year). During this period (which lasts a minimum of one week) the animal is not trained and receives a full bottle each day (>700 ml).

The British NC3R centre investigated in 2010 the use of controlled fluid regimes in brain research with macaque monkeys (Prescott et al., 2010). Their conclusion was that, when a controlled-fluid protocol is carefully applied and monitored, there are no negative consequences for the health of the animal. Follow-up research from the University of Newcastle (Gray et al., 2016) showed that controlled fluid uptake for 7 days per week did not lead to abnormal blood values or signs of dehydration. Another study (Hage et al., 2014) analysed a broad range of behaviours over several months during fluid control and found no evidence for alterations in behavior, which indicates that the animals' wellbeing can be stably ensured during training sessions with a proper protocol. Indeed, from their general appearance, it is very difficult, if not impossible, to distinguish between monkeys under fluid control and monkeys with ad libitum access to water. Furthermore, the animals are seen regularly by a veterinarian to inspect their general condition, and we investigate measures of kidney function during the yearly check-ups. We have never obtained indications of impaired kidney function. Hence, our own experience is in accordance with the literature, which indicates that a careful protocol of controlled fluid uptake is a safe and effective manner to motivate animals to perform the required cognitive tasks. Considering the abovementioned precautions and proactive measures, the chances that we will encounter dehydration in one of our animals are practically zero.

The procedures described above are similar for all monkeys in our facility (although the type of head holder is different for animals assigned to MRI projects, since metals cannot be used). This means that sometimes re-use of animals from other studies will not be possible (see C).

The procedures below are specific for the current project.

### **Behavioural training on complex tasks**

*Discomfort: Mild, 1-5 times a week*

Once the animals have completed their initial training, training will begin on more complex cognitive tasks. These tasks will comprise variants of a straightforward decision-making tasks, in which the animal chooses between visual targets by making an eye- or hand-movement. Different targets or target features could, for instance, be associated with different levels of reward. The rules that determine the amount of reward or the correct response can then be signalled by secondary cues and change over time to probe the animal's ability to adjust its behaviour to changing reward information. Such tasks are highly relevant for psychiatric disorders associated with problems in motivation or reward-processing. Depending on complexity, the animals are expected to learn new tasks in 1-6 months.

### **Structural neuroimaging under anaesthesia**

*Discomfort: Mild (recovering from brief anaesthesia), ~4-5 times per animal.*

The mapping of functional imaging onto specific brain structures requires much more detailed structural brain information than can be obtained in the brief initial structural scan routinely performed with new animals and mentioned in the above. To obtain such information we need to employ slower scanning sequences, for which motion artefacts are primary concern. To this end, the monkey is anesthetized in its home cage and then transferred to the MRI facility. The anatomical scan lasts approximately an hour, after which the monkey is returned to his home-cage, and recovers. We expect to need approximately 4 or 5 of these imaging sessions per animal, the results of which can be averaged to reconstruct high-resolution 3D representation of an animal's individual neuroanatomy. Since anaesthesia is only used here to avoid motion, we will use a relatively low dose to minimize the discomfort associated with recovery.

### **Surgery: Recording chamber implantation**

*Discomfort: Moderate for 1-2 days, becoming mild for 1 week.*

A surgical procedure is carried out under general anaesthesia to implant up to two recording/stimulation chambers. The choice for one or two stimulation chambers depends on the brain areas we plan to stimulate based on neuroimaging results. If these areas can be reached from a single chamber we will only implant one. If, however, some areas require a significantly different point or angle of entry into the brain it is possible that they cannot be reached from the same chamber. In such cases, and if space permits, we will implant two chambers. If this requirement is known before the first chamber is implanted, both chambers will be implanted in the same procedure. In this initial procedure, the skull is left intact. An incision is made in the scalp and the skin is retracted. A recording chamber is placed in a location that allows access to the brain regions that will be targeted with stimulation. The animal receives appropriate analgesics during and after the procedure.

### **Cleaning recording chamber**

*Discomfort: none, 2-3 times a week*

The recording chamber(s) must be cleaned every 2-3 days to prevent infection. The procedure takes place while the animal is sitting in the primate chair before or after a recording session. The chamber lid is removed and the interior of the chamber is flushed with anti-bacterial solutions such as chlorhexidine. Finally, the chamber is flushed with saline. The total duration of the cleaning procedure is around 5 minutes and it causes no discomfort.

### **Surgery: Craniotomy**

*Discomfort: Moderate for 1-2 days, becoming mild for 1 week.*

A surgical procedure is carried out under general anaesthesia to perform a craniotomy inside the recording chamber(s), allowing access to the underlying brain structures. The animal receives appropriate analgesics during and after the procedure. In some cases, it may be possible to combine the craniotomy procedure with the recording chamber implantation in a single procedure.

### **Awake neuroimaging/electrical stimulation/electrophysiological recording**

*Discomfort: Mild, 1-5 times a week for BOLD, 3-7 consecutive days for contrast-enhanced CBV (followed by 7 days of no contrast-agent).*

The awake neuroimaging/electrical stimulation/electrophysiological recording sessions are similar to the behavioural training sessions, with the exception that the monkey is transported to the imaging facility in a closed off cart (~5 min) and either performs the task inside the real MRI scanner and/or the animal is connected to the stimulation/recording equipment. Both the electrical stimulation and the electrophysiological recordings require electrodes to be slowly lowered across the dura into the brain which may cause a brief moment of mild discomfort. If that occurs, we will use a low dose of local anaesthetic applied to the dura to prevent any discomfort. In MRI-scanning sessions the monkeys may experience mild discomfort from the loud scanner noise, even though they have been exposed to it during training and we give them earplugs. In our experience, the animals do not show any signs of distress in response to scanner noise. The duration of each session will be between 1-4 hours (typically 2-3). Animals are generally either in a recording session or being trained (on a new task, or to maintain performance on 'known' tasks) 5 days a week.

In practice, scanning sessions in which BOLD signals are measured will usually be done no more than 4 times a week (due to scanner availability). Scanning sessions in which CBV signals (higher signal-to-noise-ratio than BOLD) are measured by use of the injection of an iron-oxide contrast-agent (maximally 12 mg/kg) will preferably be clustered in 3-7 consecutive days, followed by at least 7 days in which no contrast-agent is given. This is because the half-life of the contrast agent in monkeys is approximately 15h. Consequently, the required dosage for injection becomes progressively lower when we image on consecutive days. Due to this accumulation, we will also inject the animals with an iron chelating agent afterwards (4-6 days) to help reduce plasma iron levels back to normal. Electrophysiological recording sessions can be performed in the training set-up (no MRI scanner needed), which is available 1-5 days a week.

It is difficult to precisely estimate the relative frequencies of training sessions, BOLD-imaging sessions, CBV-imaging sessions, and electrophysiological recording sessions, because this will depend on animal performance, scanner availability, and initial results. As a general guide, we can say that we will start a scanning project with BOLD-imaging sessions to get some initial results and verify whether everything works as planned. If initial results, animal performance, and scanner availability allow it, we will perform sets of CBV-imaging sessions (as described above) to obtain higher quality data. Due to its higher signal-to-noise-ratio, we estimate that CBV-imaging allows roughly a threefold reduction in the number of imaging sessions compared to BOLD-imaging. It is furthermore expected that about 30-40% of sessions will be training sessions to maintain or improve cognitive behaviour on the tasks. In such sessions, the animal is not scanned and no electrode penetrations are made.

The total duration of the recording (and training) sessions will be between 6 months and 4 years.

#### **Removing tissue above the dura**

*Discomfort: Moderate for 1 day (recovery from anaesthesia), once every 1-3 months after craniotomy.*

It is sometimes necessary to remove tissue that has grown over the dura within a recording chamber to improve the ease with which electrodes can be moved into the brain. The monkey is lightly anesthetized and the tissue is removed with a specially designed tool. The amount of tissue damage caused by this procedure is minimal and the monkey recovers within an hour after cessation of the anaesthesia. The monkey receives analgesics during the procedure.

#### **Surgery: Restorative surgeries**

*Discomfort: Moderate for 1-2 days, becoming mild for 3-4 days.*

In rare cases an implant (head-post or recording chamber) may become loose. A repair surgery is then performed to prevent failure of the implant. The repair surgery is performed under general anaesthesia with appropriate analgesia. The nature and duration of the repair surgery depends upon the type of implant and the extent of the problem. An individual monkey can undergo a maximum of two restorative surgeries per implant during the course of these procedures. With the maximum possible number of two recording chambers and a headpost this could result in maximally 6 procedures. Repair surgery will always be performed in consultation with the Animal Welfare Body (IvD) and (if necessary) the veterinarian.

#### **Surgery: Implant removal**

*Discomfort: Moderate for 1 day, becoming mild for 1-2 days.*

Monkeys that have reached the end of the experiment and that will not be re-used in other experiments or euthanized are sometimes kept at the institute because of social bonds that the monkeys have formed with other animals, or because they are particularly social animals that are useful for acclimatizing young animals. It may also be possible to send animals to a primate refuge (see NCad advice "Rehoming of former laboratory animals"). In these cases, the implants are removed in a further operation under general anaesthesia with appropriate analgesia. Recording chambers and head-posts can usually be removed in a single procedure. The skin is re-sutured over the location of the implant and in our experience the animals recover fully from the procedure.

**Perfusion**

*Discomfort: Mild or none.*

If histological analysis needs to be performed to verify the location of electrodes, then the monkey will be euthanized at the end of the experiment. The animals are euthanized by an overdose of barbiturates. In cases where the brain will be used for further anatomical or histological studies, the monkeys are cardially perfused with fixative.

**Annual health-check**

*Discomfort: Mild (recovery from brief anaesthesia).*

Once per year, each animal in our facility is checked by the veterinarian to assess their general health and appearance and to take blood/urine samples for further testing. In this way, the long-term health of the animals is closely monitored. The animal is lightly anesthetized during this procedure which takes 10-15 minutes per animal.

**References**

- Bichot, N.P., Heard, M.T., Desimone, R., 2011. Stimulation of the nucleus accumbens as behavioral reward in awake behaving monkeys. *J. Neurosci. Methods* 199, 265–272.
- Hage, S.R., Ott, T., Eiselt, A.-K., Jacob, S.N. & Nieder, A. 2014. Ethograms indicate stable well-being during prolonged training phases in rhesus monkeys used in neurophysiological research. *Lab. Anim.* 48, 82–87.
- Prescott M.J., Brown V.J., Flecknell P.A., Gaffan D, Garrod K, et al., 2010. Refinement of the use of food and fluid control as motivational tools for macaques used in behavioural neuroscience research: Report of a Working Group of the NC3Rs. *J. Neurosci. Methods* 193, 167–88
- University of California Davis, 2001. Policy statement: water restriction in rhesus behaviour studies. UC Davis Office of Environmental Health and Safety.
- Gray et al., 2016. Physiological, Behavioral, and Scientific Impact of Different Fluid Control Protocols in the Rhesus Macaque (*Macaca mulatta*). *eNeuro* 3(4).

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

These experiments investigate the effect of electrical stimulation of different brain regions on both global brain patterns and cognitive behaviour. In neurophysiological primate research, the absolute minimum number of animals that can be used to check for consistency across animals is two, which is also the broadly accepted norm. Statistics in such studies are however typically performed across neurons or electrical stimulation sites, a level of detail that is far beyond the resolution of fMRI. In human fMRI studies, a typical project will comprise >10 participants that are each scanned only once or twice. In monkey fMRI, ethical considerations and training investments typically dictate that an experiment is performed in 2-5 animals, each of which is scanned multiple times to obtain reliable results over sessions.

We estimate that to obtain reliable results with a range of stimulation targets, we will need data from at least four animals, due to the expected variability in cognitive behaviour, anatomical accessibility of stimulation targets and imaging results. We thus initially apply for a minimum of four animals. However, because the real variability in results across animals in these experiments is not yet known, this project may require measurement in an additional animal. In addition, although we have good experience with most of our monkeys, some individual circumstances may preclude a monkey from being used for a specific experiment (e.g., if he is not able to learn a behavioural task). If and when such cases arise, we will apply for an additional animal with the institute's IVD.

**B. The animals**

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

**Species used:**

We will use rhesus macaque monkeys (*Macaca mulatta*) in these experiments. All monkeys are obtained from a national primate centre, or in exceptional circumstances (i.e. if no animals are available from the primate center) from a licensed importer. Monkeys are typically acquired aged 3 years or older. The main

aim of this application is to understand how deep brain stimulation (DBS) of subcortical structure influences cognitive functions to potentially relieve psychiatric symptoms. This approach requires a species with comparable neuroanatomy to the human and the ability to perform cognitive tasks that are relevant to the psychiatric symptoms for which these patients are typically treated. In rodents, the nodes of the relevant neural circuits although similarly interconnected, are differently located relative to each other. In addition, they have much smaller brains and their frontal cortex is far less developed, which makes it difficult to translate distal stimulation effects to the scale of the human brain. While certain aspects of the neurobiology of psychiatric disorders and their interaction with DBS can be studied in rodents, the cognitive and brain-wide consequences of clinically relevant DBS cannot. We collaborate with a group in our institute that takes this approach in rodents and discuss experimental designs and results. These regular meetings which include clinicians, the rodent research group, and the monkey research group constitute a unique research environment and allows us to optimize our research for clinical relevance. Larger animals such as pigs might be similar to humans in terms of brain size, but not in terms of functional neuroanatomy or their capacity to perform complex cognitive visual tasks. Only primates such as macaques fulfil both the neuroanatomy and cognition requirements. The experiments are invasive as they require the implantation of a head-post and further surgical implantations to allow stimulation electrodes to enter the brain. These experiments can therefore not be performed in humans. Given these considerations, no alternative to the macaque monkey is available. Furthermore, we will be able to benefit from the vast amount of existing (neuroscience) literature on macaque monkeys, and relate our findings to previous work.

**Sex used:**

We exclusively use male monkeys in these studies. Our facility houses only male monkeys as males adapt better to living in paired social housing than females and there are no possible complications with breeding that would be present with female animals. The choice for males will not affect the results of the study as it is unlikely that there are differences between the sexes in how DBS affects brain activity and basic cognitive behavior. Males are therefore chosen to allow us to maintain 100% male animals in our facility.

**Animal number:**

Given the novelty of the proposed experiments it remains hard to estimate the individual variability that we will encounter. However, we estimate that to obtain reliable results with a range of stimulation targets, we will need data from at least four animals due to the expected variability in behaviour, anatomy and imaging results. While neurophysiological studies with non-human primates commonly comprise only two animals, data in these experiments is usually obtained from a large number of individual neurons or recording electrodes (for instance on a Utah array). This is a level of detail that is inaccessible to fMRI. Human neuroimaging studies generally include 10-20 participants that are scanned once or twice. Monkey neuroimaging studies, on the other hand, usually report results from between 2 and 5 animals that are each scanned numerous times to obtain reliable results. Several recent monkey fMRI studies investigating global brain networks (Ortiz-Rios, et al. 2017; Sliwa & Freiwald, 2017), reward processing (Chau, et al. 2015), and microstimulation effects (Petkov et al., 2015) all report results from four animals. Even though the novelty of our study makes it difficult to predict variability and effect sizes, we estimate that we will be able to obtain reliable results with four animals as well.

In addition, it could still be possible that results from these animals is contradictory, or that ethical considerations (humane endpoint) require the termination of an animal. In such cases, the acquisition of data from an additional animal may be required. We have examined the use of monkeys in our lab over the past 10 years and found that in 4 out of 18 electrophysiology projects an additional monkey was required (22% chance). It remains difficult to estimate whether these odds will be similar for neuroimaging studies, but we have no a priori reason to expect them to be any different. If and when we deem the acquisition of an additional animal necessary, we will consult with the institute's Animal Welfare Body (IvD) and apply for formal permission.

This research project thus requires a minimum of 4 animals with the possible addition of 1 additional animal in the case of inconsistent results or problems with one of the 'original' animals. Moreover, 2 animals are already involved in related projects under previous licenses (see section 3.4.3 of the project



proposal). They are included in the total number of animals requested here. After a license for this project has been obtained, all proposed experiments will formally be executed under the new license. These 2 animals will then be transferred to this license and new study protocols will be submitted to the IVD.

#### References

- Chau BKH, Sallet J, Papageorgiou GK, Noonan MP, Bell AH, Walton ME, & Rushworth MFS. (2015). Contrasting Roles for Orbitofrontal Cortex and Amygdala in Credit Assignment and Learning in Macaques. *Neuron*, 87(5), 1106–1118.
- Ortiz-Rios M, Azevedo FAC, Kuśmierk P, Balla DZ, Munk MH, Keliris GA, et al. (2017). Widespread and Opponent fMRI Signals Represent Sound Location in Macaque Auditory Cortex. *Neuron*, 93(4), 971–983.e4.
- Petkov CI, Kikuchi Y, Milne AE, Mishkin M, Rauschecker JP, & Logothetis NK (2015). Different forms of effective connectivity in primate frontotemporal pathways. *Nature Communications*, 6, 6000.
- Sliwa J, & Freiwald WA (2017). A dedicated network for social interaction processing in the primate brain. *Science*, 356(6339), 745–749.

#### C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

Once an animal is implanted with MRI-compatible implants, it can participate in neuroimaging projects in later experiments. After the experiments of this procedure, the animals can be retrained to perform additional cognitive tasks. In addition, it may sometimes be possible to transfer an animal to another CCD project where either existing implants are continued to be used, or it might receive additional implants. In all cases, we impose the condition that an individual monkey receives no more than two intracranial implants in total (headposts are not considered intracranial implants) and has *not* undergone serious discomfort. This means, for instance, that if a monkey has already been implanted with the maximum number of two recording chambers in this project, it will not receive any additional intracranial implants. Similarly, animals from other CCD projects could potentially be re-used in this project, provided that their existing implants are MRI-compatible. Again, an individual animal will never receive more than two intracranial implants (including implants from previous projects) and won't be re-used if it has already experienced serious discomfort. Re-use is preferable to the acquisition and training of a new animal as it leads to a reduction in the total number of animals.

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

No

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

n.a.

#### D. Replacement, reduction, refinement

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

##### Replacement

The main aim of this application is to understand how deep brain stimulation (DBS) of subcortical structures influences cognitive functions and activity in other brain regions. Patients that are implanted with clinical DBS systems have their electrodes in a fixed location, which precludes systematic investigation of different stimulation targets. Furthermore, clinical DBS systems cannot be active inside the strong magnetic field of the MRI environment (some hospitals will not even scan patients with a DBS system that is switched off) which means that direct effects of stimulation cannot be recorded. This approach thus requires an animal model with comparable neuroanatomy to humans treated with DBS and the ability to perform cognitive tasks that are relevant to the psychiatric symptoms for which DBS patients are typically treated. Only primates such as macaques fulfil both these requirements. Given these considerations, no alternative to the macaque monkey is available.

**Reduction**

The number of animals we want to use is the minimum number with which reliable results can be obtained, and no further reduction is possible. If possible, we will re-use the animals used in this procedure in further experiments leading to a reduction in the total number of animals used.

**Refinement**

All procedures (including housing) are refined to minimise discomfort for the animals as much as possible, using the latest knowledge and techniques in animal welfare. We take several measures to refine our experiments. First, we decrease the amount of stress by gradually introducing all aspects of the behavioural tasks, and careful conditioning of the monkeys to any novel aspects of our behavioural experiments. Second, we implement an elaborate set of measures (described above) to prevent adverse effects of the controlled fluid uptake. Third, all surgeries will be carried out by persons who are well trained. Fourth, we use antagonist to minimize the discomfort of recovering from anaesthesia. Fifth, animals are housed socially in an enriched environment in order to keep them engaged, reduce the discomfort of living in a cage, and improve their cognitive abilities.

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

During surgeries, analgesics and anaesthesia are used to minimize pain and suffering. Breathing and temperature will be registered and level of anaesthesia and warmth of heating-pad will be adjusted as such. Post-surgical analgesics will be administered and animals will be kept on a warm blanket or under a warm lamp until they wake up. Food and fluids are placed in the home cage to facilitate easy access to food and water. They will be allowed to recover for several weeks following surgery. During a recovery period of at least 7 days post-surgery, behaviour, wound area, and appearance will be monitored daily. In this period, additional analgesics and antibiotics are given to minimize discomfort and the risk for infections.

We constantly monitor the welfare of trained animals, assessing their appearance and behaviour every weekday, with checks by the animal caretakers during the weekend. During periods of behavioural training the animals are weighed daily and all details concerning weight, appearance, fluid intake and any irregularities are recorded in an electronic database which can be viewed by researchers, caretakers and inspectors.

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

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

The proposed experiments are novel and an important step towards promoting DBS as a precise knowledge-driven treatment option in psychiatry. The applicants are very familiar with the research literature and the present set of experiments are ground-breaking and have not been performed previously. The research described here is not legally required.

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

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

No

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

Monkeys will be housed solitarily for several days following an implantation surgery, to ensure full rest and recovery. The cage environment will be enriched by bedding material, swings, toys, and treats. We will monitor their weight and appearance on a daily basis.

Their fluid uptake will be controlled. The measures we take to reduce adverse effects of restricted fluid

uptake have been described above.

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

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

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

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

## Classification of discomfort/humane endpoints

### H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

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

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

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

During surgery, anaesthesia and analgesia will be applied as described above. Also, post-surgery analgesics will be administered.

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

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

1. Infections: There is a rare possibility of infection around the wound area. In these cases, we will apply additional analgesics and/or antibiotics. Visible signs of microbial infection will be monitored. The following will be considered as signs of an unhealthy state of the animal: (a) aberrant behaviour; (b) dehydration; (c) weight loss.

2. Wounds as a result of fighting with other animals: the social housing structure in the animals' home-cage environment is carefully determined (together with experts in macaque behaviour) and closely monitored. However, fights do sometimes occur between animals to assert dominance, either between cage-mates or between animals in neighbouring cages. These fights usually don't cause any, or only minor superficial, damage, but sometimes it may be necessary to clean a wound and stitch it up. We do believe, however, that the benefit of social housing outweighs the discomfort associated with such occasional fights.

3. The occurrence of weight loss due to the controlled fluid uptake and the measures that we take to prevent dehydration have been described above.

4. Insufficient recovery after surgery: applicable if an animal shows permanent weight loss (more than 15%-20% of the weight immediately after surgery for more than 10 days). This occurs infrequently (<2%).

5. Loosening of an implant.

6. Brain swelling during operations.

7. Seizures. In very rare cases it may be possible an animal suffers from a seizure, this may be due to brain-swelling after an operation or a side-effect of an infection.

8. Sub-dural bleeding. During operations or electrode penetrations it can occur that a blood-vessel is damaged. Small bleeds typically cease within minutes with no ill effects. Very rarely the bleed may be

larger leading to neurological symptoms. These typically disappear within a few days. In the case of persistent severe neurological symptoms, the animal is euthanized.

Explain why these effects may emerge.

Surgical implantation of cranial and brain implants is accompanied by risk of microbial infection, tissue rejection, or unwanted growth of granulation tissue that prevents the implant from integrating with the body. The causes of the other adverse effects are described above.

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

1. We constantly monitor the animal's behaviour, liquid intake, wound area, and physiology. Surgeries are performed under sterile conditions and without any unnecessary delays to minimize the amount of time the animal spends under anaesthesia. Animals will be monitored daily and if adverse effects are present, this will be discussed with the veterinary officer. If necessary, treatment will be initiated (topically or systemically applied medication). Interfaces between biological tissue and implants are cleaned regularly to and recording chambers cleaned every few days to minimize the risk for infection.
2. The social housing structure in the animals' home-cage environment is carefully determined (together with experts in macaque behaviour) and closely monitored. Cage-mates are matched based on age (difference), physical appearance and character to avoid ambiguous dominance structures as much as possible. Social structure, however, is a dynamic feature and changes in dominance do occur over time, for instance with aging. When problems start to arise we re-assess the situation and if necessary change the social housing structure.
3. The measures to prevent dehydration due to controlled fluid uptake have been described above.
4. We monitor animals carefully after surgery. They are placed under heat-lamps during recovery and given post-operative analgesics. Food and water are freely available in the home-cage. The animals are temporarily housed alone after the surgery to allow proper recovery. All animals are checked once per year by the veterinarian to monitor their long-term health.
5. Over the years we have made several refinements to our cranial implants and we continuously review and refine the design of our implants. In the unlikely event that a head post or recording chamber becomes loose or detached, the animal is closely inspected, and may undergo a CT scan to allow us to assess the condition of the bone. If an implant becomes loose/detached from the skull, we reattach the implant in a repair surgery. The repair surgery is performed under anaesthesia and with analgesia in an identical fashion to the original attachment surgery. We estimate the discomfort to be moderate during recovery from the anaesthesia (1 day) becoming mild for 1-2 days. In rare cases (once in the past 10 years), the skull becomes infected, causing moderate discomfort. In these cases, the monkey is immediately euthanized under anaesthesia. We minimize the occurrence of headpost failures by slowly adapting the monkey to being head-fixed in the set-up so that it is relaxed and does not exert strong forces on the headpost while fixed in the setup.
6. To combat the possibility of brain-swelling, we always give pre-, peri- and post-operative corticosteroids for operations in which the skull is opened and, if indicated, we give intravenous mannitol.
7. If the animal suffers a seizure, anti-seizure medication is given immediately and the underlying cause is treated, e.g. with high-dose corticosteroids or antibiotics. The veterinarian is informed.
8. All operations are performed as precisely as possible by trained staff.

#### **J. Humane endpoints**

May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of humane endpoints to prevent further distress?

No > Continue with question K.

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

Each animal that undergoes surgery will be monitored for clinical parameters. The monkey will be monitored for its general appearance and activity level. If a monkey has an appearance that gives cause for concern (e.g., signs of infection around the wound, weight loss, or reduction in activity level), we will notify the IvD and evaluate the animal together with the veterinarian. Similarly, if the animal does not recover well from anaesthesia we will evaluate the animal together with the veterinarian.

In addition, the weight of the animal will be monitored and if the animal loses 10-15% of their weight in 2 consecutive days or if the animal loses more than 20% of their weight throughout the course of the experiment then the veterinarian will be contacted and a decision will be made whether a humane endpoint has been reached.

If a cranial implant breaks off and infection or severe damage to the skull is sustained, the monkey will be immediately euthanized.

Indicate the likely incidence.

Humane endpoints are expected to be met in 0-5% of the animals tested within the time frame of the experiments.

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

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

##### **Acclimatization**

Discomfort: Mild or none

##### **CT scanning**

Discomfort: Mild (recovery from brief anaesthesia)

##### **MRI scanning (initial)**

Discomfort: Mild (recovery from brief anaesthesia)

##### **Chair training**

Discomfort: Moderate the first 1-2 times, none after this.

The animal experiences some stress the first one or two times, but they very quickly learn to associate the chair with rewards and voluntarily enter the chair after this phase.

##### **Surgery: Head-post implantation**

Discomfort: Moderate for 1-2 days, becoming mild for 2-3 days.

##### **Head-fixation training**

Discomfort: Mild (but decreasing after 1-2 times)

##### **Behavioural training on basic tasks**

Discomfort: Mild

##### **Controlled fluid uptake**

Discomfort: Mild

##### **Behavioural training on complex tasks**

Discomfort: Mild

##### **Structural neuroimaging under anaesthesia**

Discomfort: Mild (recovering from brief anaesthesia)

##### **Surgery: Recording chamber implantation**

Discomfort: Moderate for 1-2 days, becoming mild for 1 week.

##### **Cleaning recording chamber**

Discomfort: none

##### **Surgery: Craniotomy**

Discomfort: Moderate for 1-2 days, becoming mild for 1 week.

##### **Head-fixation training**

Discomfort: Mild

Monkeys very quickly adapt to head-fixation.

##### **Awake neuroimaging/electrical stimulation/electrophysiological recording**

Discomfort: Mild

At this point the animals are cooperative and experience no discomfort from performing the tasks. They may experience brief mild discomfort from entering electrodes through the dura in stimulation and electrophysiological recording sessions, and/or the injection of contrast-agent and iron-chelating substances in CBV-imaging sessions. Scanner noise could potentially cause mild discomfort as well, but in our experience the monkeys are not bothered by it much. Being head-fixed for several hours might also cause mild discomfort, but the animals are gradually accustomed to this experience and generally remain either cooperative (performing their task) or fall asleep.

##### **Removing tissue above the dura**

Discomfort: Moderate for 1 day (recovery from anaesthesia)

##### **Surgery: Restorative surgeries**

Discomfort: Moderate for 1-2 days, becoming mild for 3-4 days.

Restorative surgeries cause considerably less discomfort than the original implantation surgery as there is no need to cut through the skin and muscle tissue, which have already been removed during the original implantation. Hence, the overall tissue damage is minimal and the animals recover rapidly. The surgery and recovery from surgery is classified as moderate discomfort (for 1-2 days), becoming mild (for 3-4 days). There is a maximum of two restorative surgeries per implant.

**Surgery: Implant removal**

Discomfort: Moderate for 1 day, becoming mild for 1-2 days.

**Perfusion**

Discomfort: Mild or none

**Annual health check**

Discomfort: Mild (recovery from brief anaesthesia)

**Cumulative discomfort**

The monkeys in this protocol will experience moderate discomfort for short periods following surgeries. All surgeries are performed under general anaesthesia with appropriate analgesia. We use advanced anaesthetic approaches in which an antagonist to the anaesthetic agent is given at the end of the surgery. This leads to very fast recovery times compared to more traditional anaesthetics meaning that the discomfort associated with these surgeries is at the lower end of moderate. We nevertheless ensure that the animals receive long recovery times of at least 3 weeks after implantation surgeries. The animals also experience mild discomfort for longer periods of time related to controlled fluid uptake and procedures associated with the recording sessions. We take several measures to maximise the amount of fluid received by the animals and we provide breaks in the controlled fluid uptake regime to keep this discomfort to a minimum. Given these considerations we estimate the cumulative discomfort to be moderate.

We base this estimation on a report of the Animal Procedures Committee who were instructed to address the question of cumulative discomfort in primate research by the UK government (Pickard, 2013). This report indicates that there is no evidence for an accumulation of discomfort above the discomfort of individual procedures. We take several measures to ensure that accumulated discomfort does not exceed the moderate level. We use long recovery times between surgeries to ensure that the animals have fully recovered before additional interventions take place. Animals are housed in a high standard social environment with natural daylight and enrichment to facilitate natural behaviours like grooming, climbing, or foraging. Our controlled fluid protocol employs the mildest form of fluid control necessary to achieve the desired performance of the animal. The monkeys always receive water on each day as well as fruit (the liquid content of the fruit is not counted towards the total fluid amount) and the amount of fluid drunk by the animal is recorded in an electronic data-base. Previous studies of controlled fluid uptake by the N3CR centre in the UK have found that there are no long-lasting effects of fluid control on the health of the animal (Prescott et al., 2010). Finally, we continuously monitor each animal's health and behavior in an electronic database, together with its weight and food and fluid intake. Although the behavior of animals that participate in these experiments is virtually indistinguishable from the behavior of animals that do not, we will also obtain the opinion of an expert monkey ethologist on a regular basis to exclude psychological discomfort. If there is a threat that the future discomfort level of an individual animal might exceed moderate (for medical or psychological/ethologic reasons), the animal will be euthanized (humane endpoint) thereby excluding the possibility of severe discomfort. Given these considerations we estimate the cumulative level of discomfort experienced by the animals to be moderate.

In the case of re-use, all discomfort experienced in a previous project is inherited by the current protocol and will be part of an animal's cumulative discomfort.

**References**

- Pickard, J., 2013. Animal procedures committee of the UK, Review of the assessment of cumulative severity and lifetime experience in non-human primates used in neuroscience research, [https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/261687/cs\\_nhp\\_review\\_FINAL\\_2013\\_corrected.pdf](https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/261687/cs_nhp_review_FINAL_2013_corrected.pdf)
- Prescott, M.J., Brown, V.J., Flecknell, P.A., Gaffan, D., Garrod, K., Lemon, R.N., Parker, A.J., Ryder, K., Schultz, W., Scott, L., Watson, J., Whitfield, L., 2010. Refinement of the use of food and fluid control as motivational tools for macaques used in behavioural neuroscience research: Report of a Working Group of the NC3Rs. *J. Neurosci. Methods* 193, 167–188.

**End of experiment**

**L. Method of killing**

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

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

The monkeys will be euthanized so that we can obtain anatomical data regarding the precise location of electrodes and the potential impact of electrical stimulation on the tissue. We will examine both macroscopic anatomical changes and microscopic changes using histological techniques. The monkeys will be cardially perfused with fixative under deep barbiturate anaesthesia

In cases where such detailed anatomical information is not required, for instance if we have obtained sufficient information from an initial number of animals, it may be possible for the animals to continue living as normal in their home cage or at a primate refuge. In these cases, the surgical implants are removed in a further operation. It is also possible that animals could be reused in other studies prior to being euthanized or 'retired'. (see section C. Re-use)

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

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

Yes

## 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: [REDACTED] 2017 2425
2. Titel van het project: **Investigating the effects of brain stimulation on the neural mechanisms of goal-directed behavior as a guide for deep brain stimulation treatments in psychiatry**
3. Titel van de NTS: **Cognitieve effecten van diepe hersenstimulatie in het kader van de behandeling van psychiatrische aandoeningen.**
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: **14-06-2017**
  - aanvraag compleet: **07-08-2017**
  - in vergadering besproken: **22-06-2017 en 27-07-2017**
  - anderszins behandeld: **niet van toepassing**
  - termijnonderbreking(en) van **26-06-2017 tot 21-07-2017 en 05-08-2017 tot 07-08-2017**
  - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen: **niet van toepassing**
  - aanpassing aanvraag: **finale herziene versie ontvangen op 05-08-2017**
  - advies aan CCD: **07-08-2017**
7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD.  
**De IvD geeft aan dat de aanvrager de aanvraag met de IvD heeft afgestemd en dat de aanvraag de instemming heeft van de [REDACTED].**

*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:

- Datum: 22-06-2017
- Plaats: [REDACTED]
- Aantal aanwezige DEC-leden: 5
- Aanwezige (namens) aanvrager: de medeaanvrager
- Gestelde vraag / vragen: de tijdens het horen van de aanvrager mondeling gestelde vragen zijn later tevens schriftelijk aan de aanvrager gestuurd zie punt 9
- Verstrek(e) antwoord(en): zie punt vraag 9
- Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag wel; zie onder vraag 9

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum brief van de DEC: 26-06-2017 en 05-08-2017

*Gestelde vragen (samenvatting) 26-06-2017:*

*Aantal dieren*

Er wordt een aantal van vier apen aangevraagd plus twee extra dieren. Een solide motivatie t.a.v. de twee extra dieren ontbreekt echter. Mondeling is toegelicht dat de extra apen pas worden ingezet op het moment dat een (of meer) van de apen problemen heeft met het leren van de taken of andere onvoorziene situaties. In de aanvraag dient duidelijk omschreven te worden onder welke omstandigheden de extra apen zullen worden ingezet. Het is evenmin duidelijk op welk moment de extra apen erbij komen. Meteen al of pas wanneer de uitval plaatsvindt?

Er is informatie verstrekt dat de kans voor de noodzakelijkheid van een extra dier ongeveer 20% is; dat zou betekenen dat er een kleine kans is dat 1 extra dier nodig is maar de kans op 2 extra dieren eigenlijk te verwaarlozen is. De onderzoekers wordt gevraagd om de onderbouwing van de extra dieren opnieuw te bezien en te overwegen om 1 en niet 2 extra dieren aan te vragen.

*Vergelijkbaar onderzoek elders*

De commissie wil duidelijk hebben wat dit onderzoek toevoegt aan vergelijkbaar onderzoek dat elders (België, VS) wordt uitgevoerd. In hoeverre is het uniek? Is er ook sprake van samenwerking met deze buitenlandse onderzoeksgroepen? En hoe zit het met relevant knaagdieronderzoek (zoals ook uitgevoerd op het eigen Instituut)? De uniciteit moet duidelijk zijn omdat dit een belangrijk aspect is voor de afweging.

*Relevantie van het onderzoek voor patiënten*

Er wordt in de aanvraag gesteld dat het voorgestelde cognitieonderzoek van belang is voor de behandeling van depressieve patiënten. De DEC wil dat deze bewering beter wordt beargumenteerd door de interactie tussen de kliniek en het voorgestelde onderzoek in apen duidelijker te schetsen. In de aanvraag wordt de samenwerking met de klinische afdeling van het academisch ziekenhuis niet vermeld. De adviseert de geformaliseerde samenwerking te noemen in de aanvraag, te meer daar de vraag naar het onderzoek (ook) vanuit de kliniek komt.

*Wat doet de kliniek – en wat is de toegevoegde waarde van het dierexperimenteel onderzoek?*

Gerelateerd aan bovenstaande vraag. De DEC mist in de aanvraag de stand van zaken binnen de kliniek; daar wordt men geconfronteerd met een therapie die soms wel en soms niet werkt. Wat zijn de ideeën over de redenen waarom het soms niet succesvol is. Wat doet men in de kliniek om het slagingspercentage te verhogen?

In de kliniek worden volgens de presentatie ook gedragstesten met patiënten gedaan; dat is waarschijnlijk met het doel om de selectie van het targetgebied te verbeteren? Geeft deze aanpak enige vooruitgang en is die vooruitgang wellicht dusdanig dat het onderzoek in de apen eigenlijk niet nodig is?

Is wellicht te stellen dat er in de kliniek sprake is van een stagnatie in het verbeteren van de DBS therapie? De vraag is dan wat het apenonderzoek dan gaat toevoegen t.o.v. het humane onderzoek om die stagnatie te doorbreken?

#### *Readout*

Uit de presentatie op de vergadering is duidelijk geworden dat in de kliniek er op uitgebreide schaal gedragsonderzoek wordt gedaan aan de patiënten om zo patiënten met ogenschijnlijk dezelfde klachten toch te kunnen onderscheiden. De patiëntenpopulatie heeft een breed spectrum en vereist een zeer precieze keuze van het DBS targetgebied. De gebruikte taken zijn gericht op beloning en impulscontrole. De huidige DBS targets spelen een rol in deze gedragingen. Het idee is dat patiënten anders (afwijkend) functioneren op het gebied van impulsiviteit en reward omdat de activiteit in deze circuits zijn verstoord en dat DBS de normale activiteit herstelt. Het brein van apen en mensen komt in grote mate overeen; niet alleen anatomisch maar ook wat betreft de effecten op het gedrag/gedragstaken bij stimulatie van specifieke targets. Het verschil is echter dat in de apen de stimulatie juist wordt gegeven in een normaal functionerend circuit met de verwachting dat de uitvoering van de taak zal worden beïnvloed. De situaties in de aap en de patiënt zijn daarom niet volledig vergelijkbaar; in hoeverre is zijn de gegevens verkregen uit de aap te transleren naar het afwijkende circuit van de patiënt? De DEC ziet graag een visie op dit punt in de aanvraag terug.

#### *Herhaalde plaatsing elektrodes*

In het antwoord op vraag 3.1 van de NTS wordt gesproken over plaatsverandering van de stimulatie-elektrodes. Deze handeling is één van de redenen waarom dit onderzoek niet in mensen kan worden gedaan dus het is van belang om in de aanvraag helder te presenteren wat deze handelingen inhouden. De onderzoekers wordt verzocht aan te geven hoe vaak de veranderingen optreden en hoe het precies in zijn werk gaat (verandering in diepte – verandering van positie in het horizontale vlak?). En ook of er dan sprake is van plaatsing van een telkens een nieuwe elektrode (welke diameter heeft de elektrode?)? Treedt er schade op aan het weefsel? Plaatsen en het verplaatsen vindt plaats onder narcose?

#### *fMRI*

Wat zijn de gevolgen van het hebben van elektrodes in de hersenen voor de metingen in de fMRI? Patiënten met DBS kunnen niet in de scanner maar welke maatregelen neem je zodat de apen wel in de fMRI kunnen? Welke risico's lopen DBS patiënten in de scanner? En wat is het belang van het MRI onderzoek? Zijn er alternatieven?

#### *Hergebruik*

Binnen het huidige project zal een dier maximaal twee implantaten krijgen. De DEC gaat ervan uit dat dit niet betekent dat als een tweede implantaat is verwijderd het dier niet nog een nieuw implantaat kan krijgen. Dit graag helder formuleren.

De voorwaarden voor de instroom vanuit andere projecten zijn niet voldoende duidelijk (re-use). De DEC gaat er vanuit dat ook voor de re-use dieren er een maximum van twee implantaten is met inachtneming van het voortraject van de dieren. Graag heldere criteria met eventueel met voorbeeldscenario's van wanneer wel en wanneer niet.

#### *Cumulatief ongerief*

Het cumulatief ongerief wordt als matig ingeschat. De inschatting is complex omdat er vele ongeriefaspecten zijn in een langdurig traject. Terecht wordt onder K een lange lijst opgevoerd, maar het re-use scenario ontbreekt daarin. Over de inschatting in geval van re-use moet een tekst worden toegevoegd. De DEC adviseert ook om de publicatie "REVIEW OF THE ASSESSMENT OF CUMULATIVE SEVERITY AND LIFETIME EXPERIENCE IN NON--HUMAN PRIMATES USED IN NEUROSCIENCE RESEARCH" te bekijken op voor dit project relevante onderdelen.

#### *Stand van zaken m.b.t. de huidige apen*

De DEC adviseert om in de aanvraag de stand van zaken m.b.t. de huidige twee apen te schetsen; dit geeft een reëel beeld van de aanvraag in de praktijk en het kan bijdragen aan de inschatting van de haalbaarheid.

- Datum antwoord: 21-07-2017
- Verstrek(e) antwoord(en): De aanvrager heeft in de herziene versie de aanvraag gecomplementeerd op bovenstaande punten en de gevraagde aanpassingen doorgevoerd. Het aantal gevraagde dieren is verlaagd naar 5. De aanvrager heeft ook informatie toegevoegd over de keuze van vochtdeprivatie en het cumulatieve ongerief; dit n.a.v. door de CCD gestelde vragen in het kader van een eerdere aanvraag.

*Gestelde vragen (samenvatting) n.a.v. tweede DEC meeting: brief van 02-08-2017 en antwoord op 05-08-2017:*

- *Telt de cranial implant mee in het maximum aantal van twee implantaten per dier in zijn gehele leven (dus inclusief voorafgaande experimenten of in geval van re-use)?*  
*Antwoord: >> Deze informatie is toegevoegd in de Appendix 3.4.4.1 zodat hier nu staat: In all cases, we impose the condition that an individual monkey receives no more than two intracranial implants in total (headposts are not considered intracranial implants) and has not undergone serious discomfort.*
- *Wat is het welzijn van het dier dat onder het huidige DEC protocol?*  
*Antwoord: >> >> Deze informatie is toegevoegd in het ProjectProposal document onder 3.4.3 als: The animals that are currently involved in this project have been implanted with a headpost only (no intracranial implants). They are both healthy and cooperative, and there have not been any complications in their training.*

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

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

## **B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)**

1. Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is.  
*Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies.*  
*Het project is vergunningplichtig.*
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag / een wijziging op een bestaande vergunning.  
*Nieuwe aanvraag – Zie A4*
3. Is de DEC competent om hierover te adviseren?  
*Ja*
4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Indien van toepassing, licht toe waarom.  
*Er zijn geen DEC-leden uitgesloten van de behandeling en het opstellen van het advies.*  
*Alle DEC leden zijn onafhankelijke externe leden.*

## C. Beoordeling (inhoud)

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

Deze aanvraag heeft als hoofddoelstelling: **Het verkrijgen van inzicht hoe diepe hersenstimulatie (DHS) van neurale netwerken betrokken bij belonings-gerelateerde functies, hersenactiviteit en gedrag beïnvloedt.** Bij psychiatrische aandoeningen zijn hersenactiviteit en gedragsaspecten vaak verstoord. De nieuwe inzichten leveren aanknopingspunten ter verbetering van de huidige DHS behandeling van patiënten met dergelijke psychiatrische stoornissen.

De nieuwe inzichten worden verkregen door een drietal specifieke subdoelen te realiseren. Deze zijn: 1) Welke netwerken worden geactiveerd en geïnactiveerd door DHS in de verschillende targetgebieden. 2) Hoe is het patroon van activatie afhankelijk van de gebruikte stimulusparameters. 3) Op welke manier zijn de gedragsveranderingen afhankelijk van DHS in de verschillende targetgebieden en de stimulatieparameters.

De DEC komt tot de conclusie dat de opbouw van de aanvraag overeen komt met voorbeeld 1 van de handreiking 'Invulling definitie project'. De proeven voor de opeenvolgende iteraties en subdoelen vertonen een logische tijds- en uitkomstafhankelijke opeenvolging en zijn verbonden door go/no go momenten bepaald door de kennis verkregen uit de parallelle reeks experimenten. Gezamenlijk leidt dit uiteindelijk tot het bereiken van het hoofddoel.

Het is helder welke handelingen individuele dieren zullen ondergaan. Hierdoor is ook duidelijk welk ongerief individuele dieren zullen ondergaan. De DEC is er daardoor van overtuigd dat de aanvrager gedurende het project op zorgvuldige wijze besluiten zal nemen over de voortgang van het project en dat er niet onnodig dieren gebruikt zullen worden. Gezien het bovenstaande komt de DEC tot de conclusie dat de aanvraag voldoende samenhang heeft en daarmee toetsbaar is.

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). Dit valt buiten de taakstelling van de DEC als beschreven in artikel 18a.2.b van de Wod. Naar deze specifieke informatie wordt in het aanvraagformulier en de bijbehorende toelichting niet gevraagd en de aanvrager heeft deze informatie dan ook niet verstrekt. Het is voor de DEC daarom niet mogelijk om op dit punt een onderbouwde uitspraak te doen. De DEC wil erop wijzen dat mocht dit in sommige omstandigheden wel het geval zijn dat de CCD in een procedure voorziet waarin de aanvrager inzage krijgt en verweer kan voeren.
3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel.  
De doelcategorie sluit aan bij de hoofddoelstelling. De geschetste samenwerking met de kliniek biedt een reëel uitzicht op toepassing van de resultaten binnen de huidige DHS behandeling.

## **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 (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C4; zie bijlage I voor voorbeeld*).

Het *doel* van het project is Het verkrijgen van inzicht hoe diepe hersenstimulatie (DHS) van neurale netwerken betrokken bij belonings-gerelateerde functies, hersenactiviteit en gedrag beïnvloedt. DHS is een gangbare behandeling van verschillende psychiatrische stoornissen in het bijzonder van compulsieve stoornissen en depressie. DHS heeft in ongeveer de helft van de patiënten een positief resultaat. Het is echter niet duidelijk waarom de aanpak in de andere helft niet leidt tot goede resultaten. Gebleken is dat kleine variaties in stimulatiegebied en stimulatieparameters het verschil kunnen maken tussen falen en succes. Omdat in patiënten het aantal variaties dat onderzocht kan worden beperkt is ontbreekt een systematisch onderzoek naar de effecten van DBS in verschillende gebieden en stagneert de verbetering van de resultaten van DBS in de kliniek. In proefdieren is een dergelijk systematisch onderzoek van de verbanden tussen stimulatieparameters (welk gebied – welke elektrische parameters), geactiveerde/geïnactiverde circuits, en gedragseffecten wel mogelijk. De zeer grote overeenkomst van de anatomie van de betrokken hersengebieden tussen de mens en de resusaap maakt dat het gebruik van deze soort de beste kans biedt op het realiseren van de doelstelling.

De DEC is ervan overtuigd dat het directe doel van het project gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld. De aanvrager heeft duidelijk gemaakt wat de status van het onderzoeksveld is en inzicht gegeven in de stand van zaken in de kliniek. Tevens is gepresenteerd wat de resultaten van het al verrichte werk van de onderzoeksgroep is. Dit is voor de DEC reden om te concluderen dat het voorgestelde onderzoek met de voorgestelde aanpak haalbaar is (directe doel) en dat de nieuwe kennis zal bijdragen aan een verbetering van DHS in patiënten (indirect doel / translationeel doel). Het project kent tevens een fundamenteel-wetenschappelijke component. De resultaten van de systematische verkenning van hebben een wetenschappelijke waarde en zullen bijdragen aan een beter begrip van de werking van het brein en in het bijzonder hoe gedrag en de activiteitspatronen van neurale netwerken samenhangen.

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 onderzoeksproject zijn: De maximaal 5 resusapen. De integriteit van de dieren zal op verschillende manieren worden aangetast. Door de gevangenschap zullen de dieren geen natuurlijk (groeps)gedrag kunnen ontplooiën zoals onder meer natuurlijke omstandigheden. De dieren zullen matig ongerief ondervinden ten gevolge van meerdere chirurgische ingrepen die ze in de loop van de proef zullen ondergaan. Tijdens de uitvoering van de complexe gedragstaken zullen de dieren met hun hoofd worden vastgezet en zullen ze periodes van dorstgevoelens ondervinden. Gedurende een deel van de tijd zullen de dieren in een fMRI worden vastgezet. Na afloop van de proef zullen de dieren in de meeste gevallen worden gedood. De bij de uitvoering van het project betrokken onderzoekers. Zij zullen een substantiële toename in kennis en vaardigheden verkrijgen. De carrièremogelijkheden van de onderzoekers zullen verbeteren door publicaties. Ook de kans op het behouden en verkrijgen van nieuwe onderzoeksmogelijkheden, veelal deels gebaseerd op een goede wetenschappelijke reputatie, zal toenemen. Onderzoekers in veld van de neurobiologie en psychiatrie. Dit onderzoek kent een fundamenteel-wetenschappelijke component en de te verwachte toename van de kennis over het ontwikkelen en toepassing van DHS zal worden gedeeld door publicaties. De

wetenschappelijke resultaten zijn van algemeen belang om de werking van het brein beter te begrijpen en in het bijzonder hoe gedrag en de activiteit van neurale netwerken samenhangen. De doelgroepen in de maatschappij. Dit onderzoek zal na voltooiing een realistische kans bieden om DHS te verbeteren. Dit zal ertoe leiden dat DHS voor meer patiënten in een verbetering van kwaliteit van leven zal resulteren.

5. Is er aanleiding voor de DEC om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken?

Nee

### **Proefopzet en haalbaarheid**

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

De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager over voldoende expertise en de geschikte voorzieningen beschikt om de projectdoelstelling met de gekozen strategie/aanpak binnen de gevraagde termijn te realiseren. De voorstellen bouwen voort op de ruime kennis en ervaring die is verkregen door de uitvoering van technisch sterk vergelijkbare experimenten met resusapen binnen de groep.

De DEC is er van overtuigd dat de aanvrager voldoende expertise heeft om gedurende het project te kunnen blijven voldoen aan de 3V's.

7. 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. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C6*).

De DEC is van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen van het project en bij recente wetenschappelijke inzichten. De keuze van het model en de keuze voor de resusaap als proefdier. De DEC acht het reëel om te veronderstellen dat op basis van de resultaten van de voorgenomen reeks experimenten beschreven in het project, nieuwe en/of aanvullende kennis zal worden verkregen die bruikbaar is voor de kliniek. Tijdens de uitvoering van het project zullen de in de aanvraag beschreven kaders, inclusief de kaders van ongerief, nauwgezet door de IvD bewaakt worden. Dit is inclusief de dieren die op dit moment al worden gebruikt bij proeven die door de DEC onder de oude Wod zijn goedgekeurd. Deze proeven zullen door de IvD worden getoetst of ze inderdaad passen binnen het kader van deze aanvraag, de wetenschappelijke opzet wordt bezien en er wordt bekeken of de ongeriefsaspecten overeenkomen met het in de aanvraag geschatte ongerief.

### **Welzijn dieren**

8. 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)

De doelstellingen van het project vallen binnen de voorwaarden die door de Wod aan het gebruik van niet-menselijke primaten worden verbonden. De keuze voor de resusaap als proefdier is voldoende wetenschappelijk onderbouwd. Andere diersoorten (honden, katten, varkens, muizen, ratten) die als "lager" worden gekenschetst dan de niet-humane primaten zijn niet geschikt door de complexiteit van de benodigde visuele gedragstaken. De grote anatomische overeenkomsten van de anatomie van de targetgebieden in de mens en de resusaap zijn een essentieel onderdeel om een bruikbare toepassing van de resultaten in de kliniek mogelijk te maken.

Er bestaan geen alternatieven op basis van (stam)cellijnen of computermodellen. Nader onderzoek van de beschikbare klinische data biedt geen reëel uitzicht op verbetering van de DHS behandeling.

De DEC komt tot de conclusie dat voor het bereiken van de doelstelling apen (*Macaca mulatta*) de meest geschikte diersoort is.

9. 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 dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de richtlijn. De onderzoeksgroep doet veel moeite om de dieren sociaal te huisvesten en een verrijkte omgeving te bieden. Er is contact met een etholoog die adviezen geeft om een optimale selectie te maken voor de gepaarde huisvesting van de dieren en om de huisvestingcondities te optimaliseren.

10. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*).

De DEC heeft zich ervan verzekerd dat de aanvrager al het mogelijke zal doen om het eventuele ongerief voor de proefdieren te identificeren, te verminderen en waar mogelijk te voorkomen. De onderzoekers hebben veel ervaring met dit onderzoek en zijn voortdurend op zoek naar verbeteringen in huisvesting, chirurgische methoden en proefopzet om het ongerief te verminderen.

Het cumulatieve ongerief is door de onderzoekers ingeschat als matig. De DEC onderkent dat de classificering van het cumulatieve ongerief voor dit type dierproeven niet eenvoudig is. De proeven duren lang (tot 4 jaar) en de dieren ondergaan in die periode verschillende chirurgische ingrepen met telkens periodes van maximaal 3-4 dagen matig ongerief en daarnaast verschillende langere periodes waarin de aap gedragstaken moet uitvoeren onder milde druk van waterrestrictie (mild ongerief). Het lijkt aannemelijk dat niet-humane primaten, met hun hoge sociale intelligentie, sterk reageren en anticiperen op terugkerende momenten van ongerief die zich gedurende een lange periode in hun leven voordoen. Het is echter de vraag of het cumulatieve ongerief om die reden hoger ingeschat moet worden dan het matige ongerief van de

afzonderlijke handelingen en dus bijvoorbeeld ingeschat zou moeten worden als ernstig. De DEC meent dat waarnemingen bij eerdere experimenten van vergelijkbare aard in bij de aanvragende instelling geen feiten en omstandigheden hebben opgeleverd die aan die opvatting concrete steun geven. De DEC heeft hierover aanvullende informatie opgevraagd aan de IvD. De IvD heeft op basis van eigen ervaringen met de al lopende proeven aangegeven het ongerief te zien als cumulatief matig. De IvD is tevens van mening dat, juist door het langzaam gewennen van de dieren aan de huisvesting en de gedragstaken, er een situatie ontstaat waarbij de dieren coöperatief zijn en dat er geen sprake is van een grote psychische of fysieke belasting van de dieren tijdens de uitvoering van de gedragstaken en metingen in de fMRI. Bij het gebruik van andere diersoorten is het onwaarschijnlijk dat een dergelijke situatie zal kunnen worden gecreëerd en bij het gebruik van bijvoorbeeld honden, katten of varkens zou er eerder sprake zijn van ernstig ongerief.

Alles overwegende komt de DEC tot het oordeel dat een inschatting "cumulatief matig ongerief" op zich een goede weergave is van het ongerief in het licht van wat er in de Wet op de dierproeven bedoeld wordt met de term "ongerief".

Dit alles neemt niet weg dat de DEC oog heeft voor het feit dat het zeer langdurige experimenten betreft, waarin de dieren gedurende langere periodes dagelijks worden ingezet in experimenten waarin zij met hun hoofd worden vastgezet, dorstgevoelens hebben en taken moeten verrichten waarmee zij vloeistof kunnen verdienen. Wellicht wennen zij hieraan en ervaren ze het – na die gewenning – niet als ongerief, maar feit is dat de dieren jarenlang in gevangenschap leven en hun leven volledig in het teken staat van deze experimenten. Het betreft dieren die zowel sociaal als psychologisch zeer complex zijn en dit stelt hoge eisen aan de omgeving en de sociale verbanden waarin de dieren leven. Er wordt weliswaar een reeks maatregelen genomen om de dieren een verrijkt leven te bieden maar dit is geen volwaardige vervanging voor een zelfstandig bestaan in groepsverband in natuurlijke omstandigheden. Het is echter lastig om te bepalen welke voor de dieren belangrijke natuurlijke gedragskenmerken ze worden ontzegd door de huisvesting en de experimenten en het is daarom moeilijk te bepalen in welke mate dit tot een aantasting van het welzijn en de integriteit van de dieren leidt.

In de aanvraag is er sprake van de mogelijkheid dat de dieren na afloop van de experimenten gaan deelnemen aan experimenten onder andere CCD vergunningen; de aanvragers noemen dit "re-use". Hieraan is de voorwaarde verbonden dat het dier, naast de headpost, nooit meer dan twee craniale zal krijgen en dat er zich geen (onvoorziene) omstandigheden hebben voorgedaan waarbij sprake was van ernstig ongerief.

In de aanvraag is er ook sprake van re-use vanuit experimenten in het kader van andere CCD vergunningen. Hiervoor zijn heldere voorwaarden gepresenteerd. Ook voor deze dieren geldt dat het dier nooit meer dan twee craniale zal krijgen en dat er zich geen (onvoorziene) omstandigheden hebben voorgedaan in de voorafgaande experimenten waarbij sprake was van ernstig ongerief.

Het voordeel van de geschetste praktijk van re-use is dat het totaal aantal dieren hierdoor zal verminderen. Het nadeel is dat het ongerief voor een individueel dier zal toenemen maar dat een extra periode van gewenning aan de faciliteit en trainingsprocedures wordt voorkomen. De DEC volgt de motivering van de aanvragers m.b.t. het gebruik van een dier voor vervolgent experimenten maar omdat het ongerief van het individuele dier groter wordt is het ook denkbaar dat het gebruik van meer dieren te prefereren is. De DEC heeft dit in een eerder advies als dilemma benoemd.

- 11.** 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. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). (*zie bijlage I voor voorbeeld*). De integriteit van de dieren zal op verschillende manieren worden aangetast. Door het



leven in gevangenschap zullen de dieren zich niet kunnen ontplooiën zoals in een zelfstandig bestaan in groepsverband in natuurlijke omstandigheden. De dieren worden weliswaar paarsgewijs gehuisvest, dit is een belangrijke verbetering t.o.v. solitaire huisvesting, maar het stelt de resusapen niet in staat om een normale sociale groepsstructuur te vormen. Ook met de talrijke "verrijkingen" die de dieren worden verstrekt, kan niet volledig worden voldaan aan hun sociale en psychische behoeften. Prikkel en omstandigheden waaraan de dieren in natuurlijke omstandigheden voldoening of welzijn zouden ontleen worden zoveel mogelijk nagebootst of vervangen door andere prikkels en omstandigheden waarvan men aanneemt dat die een vergelijkbaar effect zullen hebben. Feit blijft echter dat het om een kunstmatige omgeving gaat waarin men onvermijdelijk op beperkingen stuit. Er worden de dieren ervaringen die hen voldoening en plezier geven onthouden (zie ook C10). Ten behoeve van de experimenten worden diverse implantaten in en op het hoofd aangebracht. Tijdens de uitvoering van de complexe gedragstaken zullen de dieren met hun hoofd worden vastgezet en zullen ze periodes van dorstgevoelens ondervinden. Na afloop van de proef, of na hergebruik, zullen de dieren merendeels worden gedood.

- 12.** 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 (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).  
De humane eindpunten zijn voor elk van de bijlagen dierproeven duidelijk gedefinieerd. De DEC is het met de aanvrager eens dat de kans klein is dat de dieren een humaan eindpunt zullen bereiken; dit op basis van ervaring. De aanvrager zal gedurende de gehele uitvoering van de proef het welzijn nauwgezet monitoren. De DEC is daarom van mening dat de aanvrager, indien de dieren toch een humaan eindpunt bereiken, tijdig in kan grijpen om onnodig lijden te voorkomen.

### **3V's**

- 13.** Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).  
De DEC is van mening dat de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen vervangingsalternatieven zijn. De stand van zaken in het veld van de DBS is dat door onderzoek in patiënten weinig tot geen vooruitgang meer kan worden geboekt. De aanvrager heeft aannemelijk gemaakt dat alleen een systematische inventarisatie van de verbanden tussen stimulatieparameters – circuits – gedrag, DHS als therapie kan verbeteren. Dit is in patiënten niet mogelijk gezien de risico's van het herhaald inbrengen van elektrodes, de vele fMRI sessies en de kans op infecties van het implantaat. Niet invasieve methodes zijn niet bruikbaar.  
De zeer grote overeenkomst van de anatomie van de betrokken hersengebieden tussen de mens en de resusaap maakt dat het gebruik van deze soort de beste kans biedt op het realiseren van de doelstelling.  
De DEC is tot de conclusie gekomen dat voor het bereiken van de doelstelling apen (*Macaca mulatta*) de meest geschikte diersoort is.
- 14.** 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 (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).  
De DEC is van mening dat het maximale aantal te gebruiken dieren realistisch is geraamd en proportioneel is ten opzichte van de gekozen strategie en de looptijd. De aanvrager verwacht dat voor de proef 4 dieren nodig zijn. De DEC is zich bewust van het feit dat een aantal van 2 dieren gangbaar binnen in dit wetenschappelijke veld maar de aanvrager betoogt dat het grote aantal te onderzoeken parameters (stimulatieposities –

stimulus parameters) en te verachten anatomische variatie tussen dieren en de variatie in fMRI resultaten er een noodzaak is om naar verwachting vier dieren te gebruiken. Met dit aantal zullen de resultaten voldoende onderbouwing bieden voor extrapolatie naar patiënten. Het is niet uit te sluiten dat er zich in de loop van het project omstandigheden voordien die de inzet van een extra dier noodzakelijk maken. De criteria voor het gebruik van een vijfde dier binnen het project zijn duidelijk beschreven in de aanvraag. De aanvrager heeft de DEC informatie verschaft over de kans is dat het gebruik van een extra dier noodzakelijk zal blijken te zijn. Op basis van eigen ervaring wordt die kans op 22% geschat. De DEC onderschrijft de verwachting dat er een redelijke kans is dat het uiteindelijke aantal dieren op vijf uitkomt.

De DEC concludeert dat het totaal aantal dieren op maximaal vijf dieren zal uitkomen. In het geval de noodzaak ontstaat om meer dan vijf dieren is een wijziging noodzakelijk.

Naar de mening van de DEC zijn de randvoorwaarden voldoende duidelijk beschreven om de IvD in staat te stellen de noodzaak van een vijfde dier te kunnen beoordelen. Door de gefaseerde aanpak van het project wordt optimaal gebruik gemaakt van de proefdieren. Het gebruik van dieren vanuit andere proeven verhoogt het ongerief voor het individuele dier maar het vermindert het totaal aantal benodigde dieren. De DEC heeft dit in een eerder advies als een dilemma gesignaleerd.

- 15.** 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 (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

De DEC heeft zich ervan verzekerd dat de aanvrager al het mogelijke heeft gedaan om het eventuele ongerief voor de proefdieren te identificeren, te verminderen en waar mogelijk te voorkomen. De dieren worden geleidelijk blootgesteld aan nieuwe aspecten van de uitvoering van de gedragstaken. Een nauwgezette registratie van de hoeveelheid gedronken water vindt plaats om zo uitdroging en schade op de langere termijn te voorkomen. De chirurgische ingrepen worden door ervaren personeel uitgevoerd. De implantaten worden aangepast aan de individuele dieren zodat het de kans op complicaties wordt vermindert. De dieren krijgen gehoorbescherming tegen de herrie wanneer ze in de fMRI zitten. De verwachting is dat humane eindpunten, dus om redenen van lijden van het dier, zelden zullen worden bereikt.

- 16.** 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.

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

Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek. Naar verwachting zullen de meeste dieren in proef na afloop worden gedood en het weefsel wordt voor ex-vivo studies gebruikt. Zie voor details onder C10 en C18.

- 17.** 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. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3; zie bijlage I voor voorbeeld*).

De aanvrager gebruikt uitsluitend mannelijke dieren omdat mannelijke dieren zich makkelijker aanpassen aan de gepaarde huisvesting dan vrouwen. Het gebruik van beide geslachten beperkt de mogelijkheden om ideale duo's te vormen voor de huisvesting hetgeen van groot belang is voor het welzijn van de dieren.

- 18.** 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, geeft ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

Indien nodig in het kader van het onderzoek worden de dieren gedood om zo inzicht te krijgen naar de exacte posities van de stimulatie elektrodes in het brein. Er wordt een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt volgens bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU (overdosis barbituraten gevolgd door cardiale perfusie met fixatief).

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.

Wanneer er geen noodzaak tot doden is kan het dier ook gaan deelnemen aan experimenten onder andere CCD vergunningen ("re-use"; zie C10). In andere gevallen kan het dier blijvend worden gehuisvest binnen het Instituut. Dit betreft bijzonder sociale dieren die een rol spelen in het acclimatiseren aan de huisvesting van nieuwe dieren. Ook zal worden overwogen om de dieren in een primatenopvangcentrum te huisvesten. Zie het NCad advies over herplaatsing: <https://www.ncadierproevenbeleid.nl/adviezen-ncad/documenten/rapport/2016/5/17/ncad-advies-herplaatsing>). De DEC wijst erop dat de mogelijkheden tot herplaatsing uiterst beperkt zijn, een extra chirurgische ingreep vereisen met matig ongerief als gevolg, en het overplaatsen van een resusaap naar een nieuwe omgeving/kolonie aanzienlijke stress oplevert voor het dier (de DEC heeft al in een eerder advies een dilemma gesignaleerd m.b.t. de herplaatsing). De DEC adviseert dat voor wat betreft de besluitvorming rondom een eventuele herplaatsing wordt verwezen naar genoemd NCad document (i.h.b. pagina 42-45). In het kort; de *vergunninghouder* besluit, geadviseerd door de IvD.

### **NTS**

- 19.** Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?  
De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

## **D. Ethische afweging**

1. Benoem de centrale morele vraag (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.A*).  
Rechtvaardigt het verkrijgen van inzicht hoe diepe hersenstimulatie (DHS) van neurale netwerken betrokken bij belonings-gerelateerde functies, hersenactiviteit en gedrag beïnvloedt het cumulatieve matige ongerief dat maximaal 5 resusapen wordt aangedaan in het voorliggende project, de subdoelen daarbij in aanmerking nemend?
2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn, ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U

kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.B; zie bijlage I voor voorbeelden*).

De volgende waarden/belangen zijn in het geding (zie onderdeel C5):

Waarden/belangen met betrekking tot de proefdieren: *maximaal matig nadeel*. Dit nadeel bestaat uit meerder periodes van matig ongerief ten gevolge van het uitvoeren van de proef en uit langere periodes van licht ongerief door de uitvoering van complexe visuele gedragstaken en periodes in een fMRI opstelling. De dieren zullen onder de gegeven huisvestingscondities, ondanks de uitgebreide reeks maatregelen om het welzijn te verbeteren, niet hun gehele repertoire aan natuurlijk groepsgedrag tot uiting kunnen brengen.

Waarden/belangen van de onderzoekers: *veel voordeel*. Deze belangen bestaan voornamelijk uit het verbeteren van hun positie in het betrokken wetenschappelijke veld. Deze waarden zijn naar opvatting van de DEC echter van gering gewicht voor de ethische afweging.

Waarden/belangen met betrekking tot de doelgroepen binnen het veld van de neurobiologie en de psychiatrie: *veel voordeel*. Met de huidige kennis over de toepassing van DHS als behandeling voor psychiatrische afwijkingen (m.n. depressie en obsessief compulsieve stoornissen) kan voor ongeveer de helft van de patiënten een verlichting van de klachten geven. Het voorgenomen project zal unieke gegevens genereren die inzichten geven voor een verbetering van DHS als therapie. De wetenschappelijke resultaten, meer inzicht in de relatie tussen hersenactiviteit en gedrag, zijn van groot belang.

Waarden/belangen met betrekking tot de maatschappij (patiëntengroepen, *andere wetenschapsgebieden*): *veel voordeel*. De aanpak biedt een reële mogelijkheid om DHS als therapie te verbeteren. De mate van verlichting van de klachten zal toenemen en ook de kans op verlichting zal hoger worden. Dit zal voor patiënten resulteren in een aanzienlijke verbetering van de kwaliteit van leven. De dierexperimenten zijn een essentiële stap om DHS te verbeteren.

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 is van mening dat de benoemde belangen van de wetenschap en samenleving in dit project zwaarder wegen dan de belangen/waarden van de proefdieren. De volgende overwegingen hebben bijgedragen tot deze conclusie:

- o Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit resulteren in een aanmerkelijke toename de technische en fundamenteel wetenschappelijke kennis die noodzakelijk is om de eerste trials in patiënten op een ethisch verantwoorde manier mogelijk te maken. De experimenten op niet-humane primaten zijn naar opvatting van de DEC de enige manier om uiteindelijk te komen tot een significante verbetering van DHS als therapie.

- De DEC is van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en recente wetenschappelijke inzichten en dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project.
- Het is aannemelijk dat de doelstellingen behaald zullen worden. Om dit doel te bereiken is het nodig proefdieren te gebruiken. De onderzoekers doen er echter alles aan om het lijden van de dieren te beperken waardoor het uiteindelijk ongerief van elk individueel dier, naar verwachting, beperkt blijft tot maximaal matig ongerief. Zie voor een uitgebreide motivatie m.b.t. het ongerief onderdeel C10.
- De DEC is er van overtuigd van het belang van de wetenschappelijke doelstelling en het belang van de nieuwe kennis. Verschillende subsidiegevers steunen het project.
- De DEC is er van overtuigd dat de aanvrager voldoende kennis en kunde heeft om de doelstellingen te behalen, en tijdens de uitvoering van het project te kunnen voldoen aan de 3V-beginselen.
- De DEC is van mening dat de aanvrager bij de uitvoering van het project alle mogelijke maatregelen treft om het ongerief van de dieren te beperken en het aantal dieren tot een minimum te beperken.

Gezien bovenstaande overwegingen is de DEC van opvatting dat het bereiken van de doelstelling, op de wijze zoals beschreven in deze projectaanvraag, het gebruik van proefdieren rechtvaardigt.

## E. Advies

### 1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning te verlenen voor maximaal 5 dieren.
- 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 x Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten: Gegeven de informatie over de kans op de noodzaak van een vijfde aap is de DEC van mening dat de vergunning afgegeven moeten worden voor een maximum van vijf dieren. In het geval de noodzaak ontstaat om meer vijf dieren te gebruiken is een wijziging noodzakelijk.

Een plan van aanpak te overleggen aan de CCD met betrekking tot die apen die niet worden gedood in het kader van de proef en die niet in aanmerking komen voor hergebruik binnen proeven uitgevoerd in het kader van andere CCD vergunningen.

- De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
  - De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is om de volgende redenen:...
  - De volgende doorslaggevende ethische bezwaren:...
  - De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...

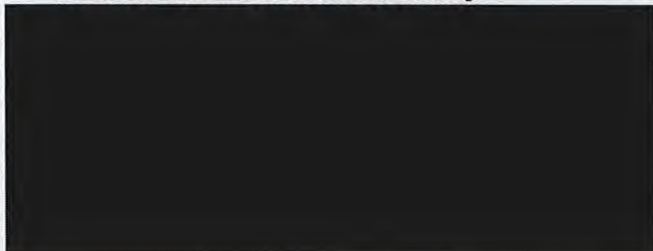
### 2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een

meerderheidsstandpunt, specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.A; zie bijlage I voor voorbeeld*).  
Het advies is unaniem.

3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.B*).  
De DEC heeft in een eerder advies een drietal dilemma's gesignaleerd: 1) het al dan niet toepassing van re-use, 2) de problematische inschatting van het niveau van cumulatief ongerief en 3) de opvang na afloop van de proef versus doden van de dieren. Deze dilemma's zijn ook van toepassing binnen dit project maar worden hier niet herhaald.



> 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  
[redacted] 20172425  
**Bijlagen**  
2

Datum 7 augustus 2017  
Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [redacted],

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 7 augustus 2017. Het gaat om uw project "Investigating the effects of brain stimulation on the neural mechanisms of goal-directed behavior as a guide for deep brain stimulation treatments in psychiatry.". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is [redacted] 20172425. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

**Wacht met de uitvoering van uw project**

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

**Factuur**

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

**Meer informatie**

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

**Datum:**

7 augustus 2017

**Aanvraagnummer:**

20172425

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

**Bijlagen:**

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur



**Datum:**  
7 augustus 2017  
**Aanvraagnummer:**  
[REDACTED] 20172425

### **Gegevens aanvrager**

#### **Uw gegevens**

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

#### **Gegevens verantwoordelijke onderzoeker**

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

**Datum:**  
7 augustus 2017  
**Aanvraagnummer:**  
20172425

**Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker**

**Naam:** [REDACTED]  
**Functie:** Post-doc  
**Afdeling:** [REDACTED]  
**Telefoonnummer:** [REDACTED]  
**E-mailadres:** [REDACTED]

**Over uw aanvraag**

**Wat voor aanvraag doet u?**

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

**Over uw project**

**Geplande startdatum:** 15 september 2017  
**Geplande einddatum:** 15 september 2022  
**Titel project:** Investigating the effects of brain stimulation on the neural mechanisms of goal-directed behavior as a guide for deep brain stimulation treatments in psychiatry.  
**Titel niet-technische samenvatting:** Cognitieve effecten van diepe hersenstimulatie in het kader van de behandeling van psychiatrische aandoeningen  
**Naam DEC:** [REDACTED]  
**Postadres DEC:** [REDACTED]  
**E-mailadres DEC:** [REDACTED]

**Betaalgegevens**

**De leges bedragen:** € 1035,-  
**De leges voldoet u:** na ontvangst van de factuur

**Checklist bijlagen**

**Verplichte bijlagen:**

- Projectvoorstel
- Beschrijving Dierproeven
- Niet-technische samenvatting

**Overige bijlagen:**

- DEC-advies

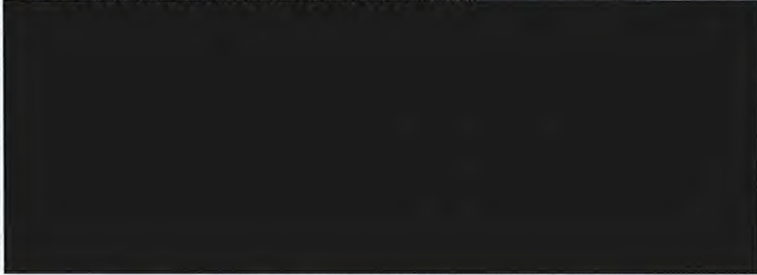
**Ondertekening**

**Naam:** [REDACTED]  
**Functie:** [REDACTED]  
**Plaats:** [REDACTED]  
**Datum:** 3 augustus 2017

**Datum:**  
7 augustus 2017  
**Aanvraagnummer:**  
[REDACTED] 20172425



> 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  
[redacted] 20172425  
**Bijlagen**  
2

Datum 7 augustus 2017  
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**

Factuurdatum: 7 augustus 2017  
Vervaldatum: 6 september 2017  
Factuurnummer: 172425

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag [redacted] 20172425	€ 1035,00

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:** maandag 28 augustus 2017 10:46  
**Aan:** [REDACTED]  
**CC:** [REDACTED]  
**Onderwerp:** vraag bij de behandeling van [REDACTED] 20172425

Geachte [REDACTED],

Uw aanvraag [REDACTED] getiteld 'Investigating the effects of bram stimulation on the neural mechanisms of goal-directed behavioguide for deepbrainstimulationtreatmentsinpsychiatry' is door de CCD in de vergadering besproken. Er is besloten uw aanvraag te vergunnen nadat de NTS onder 3.2 is aangepast. De zin : *Hiermee krijgt een groep patiënten die alle conventionele behandelmethoden al zonder succes heeft geprobeerd (ongeveer 10%) toch weer uitzicht op een normaal leven.* Is erg optimistisch gesteld en loopt vooruit op de uitkomsten van dit project. Kunt u deze zin aanpassen of verwijderen?

De leges voor dit project zijn nog niet ontvangen. Totdat de NTS is aangepast en de leges zijn ontvangen is de behandel tijd van dit project opgeschort,

Vriendelijke groet, [REDACTED]

Namens **Centrale Commissie Dierproeven**

[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

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

T: 0900 2800028

E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl) (let op: nieuw emailadres!)



Datum 30-08-2017  
Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven  
AVD20172425

## Advies aan CCD

B

Instelling: 5.1 lid2h [redacted]  
Onderzoeker: 5.1 lid2e [redacted]  
Project: Investigating the effects of brain stimulation on the neural mechanisms of goal-directed behavior as a guide for deep brain stimulation treatments in psychiatry.  
Aanvraagnummer: AVD20172425  
Betreft: Nieuwe aanvraag  
Categoriën: Fundamenteel onderzoek  
Translationeel of toegepast onderzoek

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

Proces	Aan de aanvrager is gevraagd om de NTS onder punt 3.2 aan te passen. De toon is hier te optimistisch gesteld en loopt vooruit op de eventuele successen van dit onderzoek.
--------	--

Naam proef	Diersoort	Stam	Aantal dieren	Herkomst
<b>3.4.4.1 Neuroimaging (MRI), Electrical Stimulation, and Neurophysiological Recordings</b>				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)		5	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn <b>Niet menselijke primaten</b>

De dieren worden na chirurgie voor korte tijd individueel gehuisvest, zodra de dieren voldoende zijn hersteld worden zij weer in paren gehuisvest.

De dieren kunnen worden hergebruikt na deze dierproeven, mogelijk zijn er ook dieren al; in voorgaande dierproeven ingezet.

#### **Gebruik van mannelijke en vrouwelijke dieren**

- 3.4.4.1 Neuroimaging (MRI), Electrical Stimulation, and Neurophysiological Recordings / Rhesusapen (Macaca mulatta): citaat: We exclusively use male monkeys in these studies. Our facility houses only male monkeys as males adapt better to living in paired social housing than females and there are no possible complications with breeding that would be present with female animals. The choice for males will not affect the results of the study as it is unlikely that there are differences between the sexes in how DBS affects brain activity and basic cognitive behavior. Males are therefore chosen to allow us to maintain 100% male animals in our facility.

<b>Locatie uitvoering experimenten</b>	- Alle proeven vinden plaats in een instelling van een vergunninghouder. - Er zijn geen problemen bekend met de vergunninghouder.
<b>Maatschappij</b>	Er wordt verwacht dat het onderwerp in die mate politiek of maatschappelijk gevoelig is, dat eventuele extra communicatie uitingen nodig zijn. Het betreft hier onderzoek met een diersoort die maatschappelijk gevoelig ligt, en daarbij worden binnen dit project ook trainingmethoden gebruikt die maatschappelijk niet geaccepteerd worden.

#### **2 DEC advies**

<b>DEC-advies</b>	DEC heeft vragen gesteld aan de aanvrager dit betrof het aantal dieren, experimentele keuzes zoals het maximaal aantal implantaten dat een dier kan krijgen, meer achtergrond bij de voorgeschiedenis van de dieren in de context van hergebruik. De status van dit onderzoeksproject in het internationale onderzoeksveld. De onderbouwing van de gekozen trainingmethode namelijk vochtdeprivatie en meer onderbouwende bij de inschatting van het cumulatief ongerief.  Ethische afweging van de DEC:
-------------------	--

citaat: Rechtvaardigt het verkrijgen van inzicht hoe diepe hersenstimulatie (DHS) van neurale netwerken betrokken bij belonings-gerelateerde functies, hersenactiviteit en gedrag beïnvloedt het cumulatieve matige ongerief dat maximaal 5 resusapen wordt aangedaan in het voorliggende project, de subdoelen daarbij in aanmerking nemend?

De volgende waarden/belangen zijn in het geding (zie onderdeel C5):

Waarden/belangen met betrekking tot de proefdieren: maximaal matig nadeel. Dit nadeel bestaat uit meerder periodes van matig ongerief ten gevolge van het uitvoeren van de proef en uit langere periodes van licht ongerief door de uitvoering van complexe visuele gedragstaken en periodes in een fMRI opstelling. De dieren zullen onder de gegeven huisvestingscondities, ondanks de uitgebreide reeks maatregelen om het welzijn te verbeteren, niet hun gehele repertoire aan natuurlijk groepsgedrag tot uiting kunnen brengen.

Waarden/belangen van de onderzoekers: veel voordeel. Deze belangen bestaan voornamelijk uit het verbeteren van hun positie in het betrokken wetenschappelijke veld. Deze waarden zijn naar opvatting van de DEC echter van gering gewicht voor de ethische afweging.

Waarden/belangen met betrekking tot de doelgroepen binnen het veld van de neurobiologie en de psychiatrie: veel voordeel. Met de huidige kennis over de toepassing van DHS als behandeling voor psychiatrische afwijkingen (m.n. depressie en obsessief compulsieve stoornissen) kan voor ongeveer de helft van de patiënten een verlichting van de klachten geven. Het voorgenomen project zal unieke gegevens genereren die inzichten geven voor een verbetering van DHS als therapie. De wetenschappelijke resultaten, meer inzicht in de relatie tussen hersenactiviteit en gedrag, zijn van groot belang.

Waarden/belangen met betrekking tot de maatschappij (patiëntengroepen, andere wetenschapsgebieden): veel voordeel. De aanpak biedt een reële mogelijkheid om DHS als therapie te verbeteren. De mate van verlichting van de klachten zal toenemen en ook de kans op verlichting zal hoger worden. Dit zal voor patiënten resulteren in een aanzienlijke verbetering van de kwaliteit van leven. De dierexperimenten zijn een essentiële stap om DHS te verbeteren.

De DEC is van mening dat de benoemde belangen van de wetenschap en samenleving in dit project zwaarder wegen dan de belangen/waarden van de proefdieren. De volgende overwegingen hebben bijgedragen tot deze conclusie:

o Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit resulteren in een aanmerkelijke toename de technische en fundamenteel wetenschappelijke kennis die noodzakelijk is om de eerste trials in patiënten op een ethisch verantwoorde manier mogelijk te maken. De experimenten op niet-humane primaten zijn naar opvatting van de DEC de enige manier om uiteindelijk te komen tot een significante verbetering



van DHS als therapie.

De DEC is van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en recente wetenschappelijke inzichten en dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project.

o Het is aannemelijk dat de doelstellingen behaald zullen worden. Om dit doel te bereiken is het nodig proefdieren te gebruiken. De onderzoekers doen er echter alles aan om het lijden van de dieren te beperken waardoor het uiteindelijk ongerief van elk individueel dier, naar verwachting, beperkt blijft tot maximaal matig ongerief. Zie voor een uitgebreide motivatie m.b.t. het ongerief onderdeel C10.

o De DEC is er van overtuigd van het belang van de wetenschappelijke doelstelling en het belang van de nieuwe kennis. Verschillende subsidiegevers steunen het project.

o De DEC is er van overtuigd dat de aanvrager voldoende kennis en kunde heeft om de doelstellingen te behalen, en tijdens de uitvoering van het project te kunnen voldoen aan de 3V-beginselen.

o De DEC is van mening dat de aanvrager bij de uitvoering van het project alle mogelijke maatregelen treft om het ongerief van de dieren te beperken en het aantal dieren tot een minimum te beperken.

Gezien bovenstaande overwegingen is de DEC van opvatting dat het bereiken van de doelstelling, op de wijze zoals beschreven in deze projectaanvraag, het gebruik van proefdieren rechtvaardigt.

De DEC heeft extern advies ingewonnen bij  
- de aanvrager is om aanvullingen gevraagd

Het DEC advies is Verlenen onder voorwaarden

Gegeven de informatie over de kans op de noodzaak van een vijfde aap is de DEC van mening dat de vergunning afgegeven moeten worden voor een maximum van vijf dieren. In het geval de noodzaak ontstaat om meer vijf dieren te gebruiken is een wijziging noodzakelijk.

Een plan van aanpak te overleggen aan de CCD met betrekking tot die apen die niet worden gedood in het kader van de proef en die niet in aanmerking komen voor hergebruik binnen proeven uitgevoerd in het kader van andere CCD vergunningen.

Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

De volgende dilemma's zijn gesignaleerd door de DEC:

citaat: De DEC heeft in een eerder advies een drietal dilemma's

gesignaleerd: 1) het al dan niet toepassing van re-use, 2) de problematische inschatting van het niveau van cumulatief ongerief en 3) de opvang na afloop van de proef versus doden van de dieren. Deze dilemma's zijn ook van toepassing binnen dit project maar worden hier niet herhaald.

### 3 Kwaliteit DEC advies

<b>Kwaliteit DEC-advies</b>	Het DEC-advies is volledig.
	Er zijn geen DEC leden uitgesloten van de behandeling van de aanvraag vanwege onafhankelijkheid of onpartijdigheid.
Het advies van de DEC is volledig en navolgbaar. Het is duidelijk over welke punten /dilemma's de discussie is gevoerd. Het aantal aangevraagde dieren was in eerste instantie n=6 maar is op advies van de DEC teruggebracht naar n=5. De DEC signaleert niet de verplichting voor een beoordeling achteraf.	

### 4 Inhoudelijke beoordeling

<b>Belangen-verstrengeling</b>	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.
<b>Doelstelling</b> Doelstelling	<p>citaat: The main objective is to understand how deep brain stimulation of neural networks, involved in reward-related cognitive functions, influences brain-wide activity and behavior. Since aberrations in the reward system are commonly observed in psychiatric disorders, such information may be used as a guide for the improvement of deep brain stimulation as a treatment option in psychiatry</p> <p>De doelstelling is vertaald in drie subdoelstellingen /onderzoeksvragen: Citaat:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Which network of areas of the cortex, basal ganglia and thalamus are activated and which ones are inactivated by DBS? If different locations in deep brain structures are targeted by DBS, how distinct are the brain-wide networks influenced by DBS at these different locations?</li> <li>2. How do the brain networks that are modulated by DBS depend on stimulation parameters such as amplitude or frequency of stimulation?</li> <li>3. Do distinct DBS locations and stimulation parameters give rise to the same or different behavioral effects?</li> </ol>

<p>Wetenschappelijk en maatschappelijk belang</p>	<p>citaat: Scientific</p> <p>The pursuit and expectation of reward are important determinants of behavior. The neural machinery of reward information processing includes, among other areas, the basal ganglia and their connections with a diverse set of cortical regions. In health, these mesolimbic pathways maintain a delicate balance that determines reward sensitivity and behavioral motivation. In numerous psychiatric disorders, however, the reward system malfunctions, resulting in behavioral phenotypes such as impulsivity, compulsivity, anhedonia, or addiction. By stimulating highly specific regions of the reward system while recording the consequences of such stimulation on brain-wide activity patterns and cognitive behavior, we will increase our knowledge of what is perhaps the brain's most important task of all: to provide us with a drive to live and to motivate us to behave the way we do. At the same time, these results will shed light on the nature of several cognitive functions that are commonly disturbed in psychiatric disorders and provide handles for novel and/or more refined DBS treatment strategies.</p> <p>Social</p> <p>Psychiatric disorders like depression, obsessive-compulsive disorder and addiction have a relatively high incidence and a significant proportion of patients is unresponsive to conventional treatment. Apart from their own personal distress (mortality rates in these disorders are high), patients present a severe social and financial burden for their friends, family and society in general (The World Economic Forum estimated the global cost of mental disorders for 2010 at \$2.5 trillion, with a projected global cost of \$6.0 trillion in 2030; Bloom et al., 2011). Improved DBS of the brain's reward and motivation system may help the improve the condition of some of these patients up to a level so that they can regain a normal life.</p> <p>With a significant proportion (e.g., 10% in OCD; Denys, 2006) of a growing population of psychiatric patients not responding to conventional treatment, there is a great demand for novel methods. The application of DBS for the treatment of psychiatric disorders is a development that had gained great momentum over the past years with promising and encouraging results. The biggest problem with this development, however, is that it is often unclear what neural structures are being stimulated and why some settings of the stimulation parameters are effective while others do not seem to work at all. Our work will precisely map what type of stimulation activates what neural structures and how this stimulation impacts behaviour and cognition. This kind of information is crucial in (further) developing efficient and successful DBS strategies for the treatment of a range of psychiatric disorders.</p>
---	---

Onderbouwing wetenschappelijk en maatschappelijk belang	voldoende uitgewerkt.
<b>Wetenschappelijke kwaliteit</b> Kwaliteit aanvrager/ onderzoeksgroep en onderzoek	Uit het advies van de DEC volgt dat aanvrager over de expertise en voorzieningen beschikt om de doelstellingen van dit project te behalen.  Het Secretariaat heeft geen reden hieraan te twijfelen.
<b>3V's</b>	
Vervanging	<b>3.4.4.1 Neuroimaging (MRI), Electrical Stimulation, and Neurophysiological Recordings:</b> citaat: The main aim of this application is to understand how deep brain stimulation (DBS) of subcortical structures influences cognitive functions and activity in other brain regions. Patients that are implanted with clinical DBS systems have their electrodes in a fixed location, which precludes systematic investigation of different stimulation targets. Furthermore, clinical DBS systems cannot be active inside the strong magnetic field of the MRI environment (some hospitals will not even scan patients with a DBS system that is switched off) which means that direct effects of stimulation cannot be recorded. This approach thus requires an animal model with comparable neuroanatomy to humans treated with DBS and the ability to perform cognitive tasks that are relevant to the psychiatric symptoms for which DBS patients are typically treated. Only primates such as macaques fulfil both these requirements. Given these considerations, no alternative to the macaque monkey is available.
Verminderen	<b>3.4.4.1 Neuroimaging (MRI), Electrical Stimulation, and Neurophysiological Recordings:</b> citaat: The number of animals we want to use is the minimum number with which reliable results can be obtained, and no further reduction is possible. If possible, we will re-use the animals used in this procedure in further experiments leading to a reduction in the total number of animals used.

Verfijnen	
	<p><b>3.4.4.1 Neuroimaging (MRI), Electrical Stimulation, and Neurophysiological Recordings:</b> citaat: All procedures (including housing) are refined to minimise discomfort for the animals as much as possible, using the latest knowledge and techniques in animal welfare. We take several measures to refine our experiments. First, we decrease the amount of stress by gradually introducing all aspects of the behavioural tasks, and careful conditioning of the monkeys to any novel aspects of our behavioural experiments. Second, we implement an elaborate set of measures (described above) to prevent adverse effects of the controlled fluid uptake. Third, all surgeries will be carried out by persons who are well trained. Fourth, we use antagonist to minimize the discomfort of recovering from anaesthesia. Fifth, animals are housed socially in an enriched environment in order to keep them engaged, reduce the discomfort of living in a cage, and improve their cognitive abilities.</p>
<p><b>3.4.4.1 Neuroimaging (MRI), Electrical Stimulation, and Neurophysiological Recordings:</b> voldoende uitgewerkt.</p>	
<p><b>Wettelijk vereist onderzoek</b> Indien ja, is er sprake van herhaling?</p>	Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.
<p><b>Hergebruik</b></p>	Er is sprake van hergebruik van dieren.
<p>3.4.4.1 Neuroimaging (MRI), Electrical Stimulation, and Neurophysiological Recordings: citaat: Once an animal is implanted with MRI-compatible implants, it can participate in neuroimaging projects in later experiments. After the experiments of this procedure, the animals can be retrained to perform additional cognitive tasks. In addition, it may sometimes be possible to transfer an animal to another CCD project where either existing implants are continued to be used, or it might receive additional implants. In all cases, we impose the condition that an individual monkey receives no more than two intracranial implants in total (headposts are not considered intracranial implants) and has not undergone serious discomfort. This means, for instance, that if a monkey has already been implanted with the maximum number of two recording chambers in this project, it will not receive any additional intracranial implants. Similarly, animals from other CCD projects could potentially be re-used in this project, provided that their existing implants are MRI-compatible. Again, an individual animal will never receive more than two intracranial implants (including implants from previous projects) and won't be re-used if it has already experienced serious discomfort. Re-use is preferable to the acquisition and training of a new animal as it leads to a reduction in the total number of animals</p>	

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
3.4.4.1 Neuroimaging (MRI), Electrical Stimulation, and Neurophysiological Recordings	Ja	volgens de richtlijn.

Naam proef		
<b>3.4.4.1 Neuroimaging (MRI), Electrical Stimulation, and Neurophysiological Recordings</b>	HEP: 0-5%	<p>citaat: Each animal that undergoes surgery will be monitored for clinical parameters. The monkey will be monitored for its general appearance and activity level. If a monkey has an appearance that gives cause for concern (e.g., signs of infection around the wound, weight loss, or reduction in activity level), we will notify the IvD and evaluate the animal together with the veterinarian. Similarly, if the animal does not recover well from anaesthesia we will evaluate the animal together with the veterinarian.</p> <p>In addition, the weight of the animal will be monitored and if the animal loses 10-15% of their weight in 2 consecutive days or if the animal loses more than 20% of their weight throughout the course of the experiment then the veterinarian will be contacted and a decision will be made whether a humane endpoint has been reached.</p> <p>If a cranial implant breaks off and infection or severe damage to the skull is sustained, the monkey will be immediately euthanized.</p>
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ongerief: 100% Matig	

## 5 Samenvatting

DeZe projectaanvraag bevat voldoende informatie over de doelstellingen, experimentele strategie en de 3V's om tot een besluit te komen. Het advies van de DEC kan hieraan ten grondslag liggen.

Het betreft een onderzoek met Niet Humane Primaten die middels vochtdeprivatie getraind worden om gedragstaken uit te voeren. De dieren

zullen tot maximaal 2x een implantaat in de schedel krijgen en moeten hiervoor chirurgie ondergaan.

De noodzaak om de dieren middels vochtdeprivatie te trainen is voldoende onderbouwd. Hiermee anticipeert aanvrager op eerder door de CCD gestelde vragen over een soortgelijke aanvraag.

Er is sprake van hergebruik van de dieren. De keuzes en overwegingen hierover zijn afgebakend in het projectvoorstel. Dit is ook op advies en aandringen van de DEC goed beschreven en afgebakend.

Bij deze en voorgaande aanvraag (AVD20171046) welke ook in de vergadering van 25 augustus wordt behandeld is de correcte inschatting van de ongeriefclassificatie een lastig punt. Ook de DEC geeft aan hiermee te worstelen. Het Secretariaat heeft daarom voor de volledigheid nog navraag gedaan bij de NVWA hoe de ongeriefclassificatie tot nog toe is gehanteerd. het antwoord van de NVWA inspecteur:

"Deze proeven worden niet door mij geïnspecteerd, maar ik heb in de registratie van de afgelopen jaren het ongerief geregistreerd voor experimenten met rhesusapen bij deze instelling nagekeken.

2016: matig ongerief

2015: matig en licht ongerief

2014: geen experimenten

2013: Toen gold de oude registratiesystematiek( 1=gering, 2=gering/matig, 3=matig, 4=matig/ernstig, 5=ernstig, 6=zeer ernstig)

De experimenten met rhesusapen werden qua ongerief toen gescoord in 1,3 en 4.

Persoonlijk denk ik dat het erg belangrijk is dat geborgd wordt dat de dieren een MILDE druk van de waterrestrictie ondervinden: dit ongerief komt vaak, zo te lezen dagen achtereen , terug.

Verder is belangrijk het langzaam gewennen aan de huisvesting en gedragstaken: dit moet goed omschreven, vastgelegd en gecontroleerd worden.

Verder neem ik aan dat de dieren, voorafgaand aan de operatie, geselecteerd zijn op geschiktheid voor dit soort experimenten".

Aanvrager heeft voor aanvraag AVD20171046 een meer uitgebreide onderbouwing van de ongeriefclassificatie gegeven op verzoek van de CCD. Zoals NVWA inspecteur beschrijft moet het trainingsprogramma zorgvuldig opgebouwd worden om de ongeriefclassificatie niet te overschrijden. uit de beschrijving van het trainingsprogramma in de projectaanvraag maakt het secretariaat op dat dit het geval is. Alles in aanmerking nemend kan het Secretariaat meegaan in een ongeriefclassificatie van matig.

De DEC stelt voor om de vergunning te beperken tot 5 dieren, dit advies wordt gevolgd.

De DEC stelt voor om een tweede voorwaarde aan de vergunning te verbinden, namelijk om een plan van aanpak op te stellen wanneer de dieren niet gedood worden of hergebruikt. Deze voorwaarde kan niet gevolgd worden omdat Het NCad advies "herplaatsing van voormalig proefdieren" stelt dat de verantwoordelijkheid voor het al dan niet herplaatsen van proefdieren ligt bij de Instellingsvergunninghouder en de Instantie voor Dierenwelzijn. In de CoP met betrekking tot NHP in dit NCad advies zijn helder alle aspecten die moeten worden meegewogen beschreven en ook welke personen hierover advies moeten geven.

Het Secretariaat stelt voor om nog de voorwaarde te stellen dat eventuele proefopzetten waarmee overlap is (zoals aangegeven door de aanvrager) komen te vervallen zodra de vergunning van dit project in gaat.

#### **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 15 september 2017 tot en met 14 september 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 september 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.

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.

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**  
[redacted]172425  
**Bijlagen**  
1

**Datum** 11 september 2017  
**Betreft** Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Geachte** [redacted],

Op 7 augustus 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Investigating the effects of brain stimulation on the neural mechanisms of goal-directed behavior as a guide for deep brain stimulation treatments in psychiatry." met aanvraagnummer [redacted]172425. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 1 september 2017 heeft u uw aanvraag aangevuld. Er is u gevraagd de tekst onder 3.2 in de Niet Technische Samenvatting te herzien. Deze loopt vooruit op de uitkomsten van het onderzoek en is derhalve te optimistisch gesteld.

#### **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 "Investigating the effects of brain stimulation on the neural mechanisms of goal-directed behavior as a guide for deep brain stimulation treatments in psychiatry." starten. De vergunning wordt afgegeven van 15 september 2017 tot en met 14 september 2022. Deze termijn is anders dan in uw aanvraag, omdat de looptijd van een vergunning niet langer kan zijn dan 5 jaar.

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.  
vanwege het inzetten van NHP voor de dierproeven in dit project.

Datum:  
11 september 2017  
Aanvraagnummer:  
[REDACTED] 0172425

**Procedure**

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie [REDACTED] gevoegd. Dit advies is opgesteld op 7 augustus 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](http://www.centralecommissiedierproeven.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven

**Datum:**  
11 september 2017  
**Aanvraagnummer:**  
[REDACTED] 20172425

[REDACTED]  
I. G. de Peuter  
Algemeen Secretaris

**Bijlagen:**

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



## Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam:

Adres:

Postcode en plaats:

Deelnemersnummer:

deze projectvergunning voor het tijdvak 15 september 2017 tot en met 14 september 2022, voor het project "Investigating the effects of brain stimulation on the neural mechanisms of goal-directed behavior as a guide for deep brain stimulation treatments in psychiatry." met aanvraagnummer [REDACTED] 0172425, volgens advies van Dierexperimentencommissie [REDACTED]. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED].

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 7 augustus 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 7 augustus 2017;
  - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 1 september 2017;
  - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 7 augustus 2017, ontvangen op 7 augustus 2017.
  - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 1 september 2017

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
<b>3.4.4.1 Neuroimaging (MRI), Electrical Stimulation, and Neurophysiological Recordings</b>				
	Rhesusapen (Macaca mulatta) /	5	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 september 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.

**Aanvraagnummer:**

20172425

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:

20172425

## 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:**

20172425

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.

#### **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.