

	Inventaris Wob-verzoek W21-04									
			wordt verstrek			weigeringsg ronden				
nr.	documenten NTS20172687	reeds openbaar	niet	geheel	deels	5.1, lid 1c	5.2, lid 2e	5.1, lid 2f	5.1, lid 2h	5.2, lid 1
1	Aanvraagform ulier				x		x		x	
2	Projectvoorstel				x				x	
3	Niet- technische samenvatting	x								
4	Bijlage dierproeven 1			x						
5	Bijlage dierproeven 2				x				x	
6	DEC-advies				x		x		x	
7	Adviesnota				x		x			
8	Ontvangstbev estiging				x		x			
9	Beschikking en vergunning				x		x			



13 SEP. 2017

Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

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

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	X Ja > Vul uw deelnemernummer in 50200 <input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen																								
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table border="0"> <tr> <td style="width: 150px;">Naam instelling of organisatie</td> <td colspan="2">Biomedical Primate Research Centre</td> </tr> <tr> <td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td> <td colspan="2">10.2.e</td> </tr> <tr> <td>KvK-nummer</td> <td colspan="2">41146967</td> </tr> <tr> <td>Straat en huisnummer</td> <td>Lange Kleiweg</td> <td>161</td> </tr> <tr> <td>Postbus</td> <td colspan="2">3306</td> </tr> <tr> <td>Postcode en plaats</td> <td>2288 GJ</td> <td>Rijswijk</td> </tr> <tr> <td>IBAN</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> <tr> <td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td> <td colspan="2">Stichting Biomedical Primate Research Centre</td> </tr> </table>	Naam instelling of organisatie	Biomedical Primate Research Centre		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	10.2.e		KvK-nummer	41146967		Straat en huisnummer	Lange Kleiweg	161	Postbus	3306		Postcode en plaats	2288 GJ	Rijswijk	IBAN	10.2.g		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Stichting Biomedical Primate Research Centre	
Naam instelling of organisatie	Biomedical Primate Research Centre																									
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	10.2.e																									
KvK-nummer	41146967																									
Straat en huisnummer	Lange Kleiweg	161																								
Postbus	3306																									
Postcode en plaats	2288 GJ	Rijswijk																								
IBAN	10.2.g																									
Tenaamstelling van het rekeningnummer	Stichting Biomedical Primate Research Centre																									
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	<table border="0"> <tr> <td style="width: 150px;">(Titel) Naam en voorletters</td> <td>10.2.e</td> <td><input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td colspan="2">10.2.e</td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters	10.2.e	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.	Functie	10.2.g		Afdeling	10.2.g		Telefoonnummer	10.2.e		E-mailadres	10.2.g										
(Titel) Naam en voorletters	10.2.e	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.																								
Functie	10.2.g																									
Afdeling	10.2.g																									
Telefoonnummer	10.2.e																									
E-mailadres	10.2.g																									
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<table border="0"> <tr> <td style="width: 150px;">(Titel) Naam en voorletters</td> <td>10.2.g</td> <td>X Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td colspan="2">10.2.e</td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters	10.2.g	X Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.	Functie	10.2.g		Afdeling	10.2.g		Telefoonnummer	10.2.e		E-mailadres	10.2.g										
(Titel) Naam en voorletters	10.2.g	X Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.																								
Functie	10.2.g																									
Afdeling	10.2.g																									
Telefoonnummer	10.2.e																									
E-mailadres	10.2.g																									
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table border="0"> <tr> <td style="width: 150px;">(Titel) Naam en voorletters</td> <td>10.2.g</td> <td>X Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td colspan="2">10.2.e</td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters	10.2.g	X Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.	Functie	10.2.g		Afdeling	10.2.g		Telefoonnummer	10.2.e		E-mailadres	10.2.g										
(Titel) Naam en voorletters	10.2.g	X Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.																								
Functie	10.2.g																									
Afdeling	10.2.g																									
Telefoonnummer	10.2.e																									
E-mailadres	10.2.g																									

- 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 Dhr. 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 1 - 1 - 2018
- Einddatum 1 - 1 - 2023
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Evaluatie van nieuwe therapieën voor de ziekte van Parkinson
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Evaluatie van nieuwe therapieën voor de ziekte van Parkinson
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC 10.2.g
- Postadres _____
- E-mailadres 10.2.e

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1287,00 Lege
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.
 Via een eenmalige incasso
 Na ontvangst van de factuur

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging
- Bijlagen: 1) Bepaling van farmacokinetiek en dosis van nieuwe therapieën op relevante gedrags biomerkers in gezonde marmosets.
 2) Therapie evaluatie in het marmoset MPTP-model.

6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:

Centrale Commissie
 Dierproeven
 Postbus 20401
 2500 EK Den Haag

Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende verklaart:

- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
- dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
- dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
- dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam

Functie

Plaats

Datum

Handtekening



Format Projectvoorstel dierproeven

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

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 50200
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Biomedical Primate Research Centre
- 1.3 Vul de titel van het project in. Evaluatie van nieuwe therapieën voor de ziekte van Parkinson

2 Categorie van het project

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

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

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

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

Wat is de ziekte van Parkinson? De ziekte van Parkinson is een zeer ernstige chronische aandoening van het centrale zenuwstelsel waarbij de motorcoördinatie is verstoord. Deze ernstige, invaliderende ziekte wordt daarom ook wel een bewegingsstoornis genoemd. De ziekte treft vooral ouderen vanaf 55 jaar met een incidentie van 1 op 500. In ongeveer 5% van de gevallen begint de ziekte al op jongere leeftijd waarbij een erfelijke component een rol speelt [1]. Echter, bij 95% van de patiënten is de oorzaak onduidelijk [2]. Bij deze idiopathische vorm van de ziekte van Parkinson zijn de eerste symptomen, zoals depressie, slaapverstoring, geheugenproblemen en constipatie, niet specifiek voor de ziekte [3]. Pas zodra de motor-symptomen optreden zoals stijfheid, het niet goed kunnen opstarten van een beweging en tremoren, vindt de diagnose van de ziekte van Parkinson plaats. Op dat moment is reeds de helft van de dopamine producerende hersencellen, die deze symptomen veroorzaken, afgestorven [4]. Deze hersencellen bevinden zich in een kern in de hersenen, de zgn. substantia nigra, die samen met het striatum betrokken is bij de coördinatie van bewegingen. Aangezien het een progressieve ziekte is, worden in de loop der jaren de symptomen van de ziekte alleen maar erger. De patiënt kan niet meer voor zichzelf zorgen en de voorhanden zijnde medicatie is niet meer toereikend om de in ernst toenemende symptomen tegen te gaan. Vanwege de lichamelijke en de psychische beperking door cognitieve achteruitgang en depressie wordt het sociale leven ernstig aangetast. De patiënt is daarnaast sterk afhankelijk van de hulp van anderen en kan niet meer zelfstandig leven.

Oorzaak van de ziekte van Parkinson: De precieze oorzaak van de ziekte van Parkinson is onbekend, maar omvat in ieder geval de interactie tussen meerdere factoren zoals genetische- en omgevingsfactoren [5]. De wisselwerking tussen verschillende factoren, zoals ontstekingsreacties, oxidatieve stress, calciumhuishouding, verminderde energieproductie in de cellen en eiwit ophopingen [5], leiden uiteindelijk tot het afsterven van dopamine producerende neuronen in de substantia nigra waardoor de typische Parkinson-symptomen optreden. De precieze oorzaak kan per patiënt verschillen, maar ouderdom is een belangrijke risicofactor. Daarom wordt de ziekte van Parkinson ook weleens ouderdomsziekte genoemd.

Pathologische aspecten van de ziekte van Parkinson: De pathologie van de ziekte van Parkinson kenmerkt zich door het afsterven van dopamine producerende cellen in de substantia nigra. Hierdoor wordt er minder dopamine geproduceerd leidend tot minder activatie van het striatum voor het aansturen en coördineren van motorische functies [6]. Maar bij deze patiënten functioneren ook andere hersengebieden minder goed waardoor ook cognitieve functies verstoord zijn (zoals planning) en er slaapverstoringen optreden. Dit gebeurt al heel vroeg in het ziekteproces [7-9].

Behandeling: Op dit moment zijn er alleen medicijnen beschikbaar die de symptomen onderdrukken. Het meest gebruikte medicijn is L-DOPA (levodopa). L-DOPA wordt opgenomen door de nog aanwezige hersencellen in de substantia nigra en in die hersencellen omgezet tot dopamine. Door een nog onbekend mechanisme veroorzaakt deze extern toegediende L-DOPA op termijn dyskinesia, dit is een vervelende bijwerking resulterend in onwillekeurige bewegingen [10]. Andere medicijnen om dit te ondervangen zijn dopamine agonisten die een vergelijkbaar effect als dopamine hebben. Ook deze medicijnen geven echter veel bijwerkingen en zijn daarnaast minder effectief. Daarom is het van belang om nieuwe behandelmethodes te ontwikkelen die de kwaliteit van leven van de patiënt verbeteren. Naast de huidige symptoom-onderdrukkende middelen is er nog geen medicijn beschikbaar dat het ziekteproces tegengaat. Om het ziekteproces te kunnen beïnvloeden moeten er nog voldoende dopamine-producerende hersencellen over zijn. Daarom wordt er veel onderzoek gedaan naar zowel vroege diagnostiek en naar behandelmethodes om de progressie te stoppen. Naast farmacologische behandelingen worden er bij zeer ernstige gevallen ook niet-farmacologische methodes gebruikt zoals 'diep brain stimulatie' (DBS) waarbij een bepaalde kern in de hersenen elektrisch wordt gestimuleerd met als gevolg een vermindering van de symptomen. Ondanks het positieve effect is het precieze werkingsmechanisme van deze methode nog onbekend. Meer inzicht hierin zal de ontwikkeling van nieuwe aangrijpingspunten voor behandeling vergroten.

In vitro modellen: Voor een snelle screening van nieuwe geneesmiddelen wordt gebruik gemaakt van neuronale cellijnen *in vitro*, zoals de dopaminerge PC12 cellijn. Deze cellijnen worden behandeld met een toxische stof (MPP+). Door potentiële geneesmiddelen aan deze cellen toe te voegen kan het tegengaan van de toxische effecten van MPP+ vergeleken worden. Na deze *in vitro* screening kan een selectie van de meest veelbelovende kandidaat geneesmiddelen om verder *in vivo* te testen gemaakt worden.

Verdere *in vivo* testen is nodig omdat verstoring van de interacties tussen cellen en verschillende hersengebieden een cruciaal aspect zijn bij de ziekte. Ook hersenorganoiden (mini-hersenen) kunnen op dit moment nog niet de vele en complexe interacties tussen de verschillende hersengebieden nabootsen.

In vivo modellen: Van 95% van de patiënten met de ziekte van Parkinson is de oorzaak onbekend, maar het klinische en pathologische beeld evenals factoren die hierbij mogelijk een rol bij spelen zijn bekend. Deze vorm van de ziekte van Parkinson kan in een diermodel chemisch geïnduceerd worden met een neurotoxische stof die zorgt dat de dopamine productie in het striatum vermindert zoals ook bij de ziekte van Parkinson te zien is. De meest gebruikte neurotoxische stoffen om te modelleren voor de ziekte van Parkinson zijn reserpine, 6-hydroxy-dopamine (6-OHDA) en 1-methyl-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), ieder met eigen, specifieke effecten. Reserpine vermindert alleen de dopamine productie zonder schade aan de cellen aan te brengen en is daardoor alleen geschikt om symptoom onderdrukkende medicijnen te testen. Reserpine modelleert niet de ziekte van Parkinson maar een vorm van parkinsonisme.

6-OHDA is niet selectief en moet daarom intracraniaal worden geïnjecteerd waarbij schade plaatsvindt in het geïnjecteerde gebied. Injectie gebeurt in één hersenhelft omdat het anders leidt tot vroegtijdige sterfte. Omdat 6-OHDA niet selectief is voor dopamine producerende cellen is het moeilijk te standaardiseren voor schade inductie.

MPTP is wel selectief voor dopamine producerende cellen. MPTP passeert gemakkelijk de bloed-hersen barrière en wordt daar in gliacellen omgezet in het toxische metaboliet MPP+. MPP+ wordt selectief via de dopamine transporter opgenomen in dopamine cellen waarna de cel afsterft. MPTP is ontdekt in de jaren tachtig bij heroïnegebruikers in California. Deze mensen hadden per ongeluk verkeerde synthetische heroïne (MPPP) gebruikt die vervuild was met het bijproduct MPTP. Hierdoor ontwikkelden zij een ziektebeeld dat niet te onderscheiden was van de ziekte van Parkinson [12]. Sinds die tijd is het MPTP-model het aangewezen model voor deze ziekte. Het voordeel van MPTP tegenover andere inductie modellen is de selectiviteit voor dopamine producerende cellen, zoals hierboven aangegeven. In dit project wordt gebruik gemaakt van MPTP om de ziekte van Parkinson te induceren.

Door de selectiviteit van MPTP voor dopamine-producerende cellen kan deze stof eenvoudig systemisch worden toegediend. Verschillende diersoorten zijn gevoelig voor MPTP, zoals de muis, de kat en de primate. De rat is echter ongevoelig voor MPTP [16] (Tabel 1). MPTP-geïnduceerde sterfte van dopamine producerende cellen in de substantia nigra in deze diermodellen is vergelijkbaar met die in de Parkinson patient [18]. Daarnaast komen de klinische symptomen van de ziekte van Parkinson zoals verstoorde motorfunctie, tremoren, apathie en verminderde gelaatsuitdrukking, alleen in het aap model overeen met die in Parkinson-patiënten [13]. In tegenstelling tot bij de aap en de mens, verdwijnen bij de kat optredende symptomen spontaan binnen 2 weken en bij knaagdieren gebeurt dit zelfs al binnen twee dagen [16]. Hierdoor kan bij de kat en de muis alleen post-mortem een mogelijk effect van de behandeling worden aangetoond, en kan de progressie van de ziekte niet worden gevolgd. Omdat symptomen in de aap niet spontaan verdwijnen is dit MPTP-model geschikt om de progressie van de ziekte en de effecten van behandeling over een lange periode te volgen. Ook zijn vroege preklinische symptomen van de ziekte van Parkinson bij de mens, zoals verstoorde slaap, alleen waargenomen bij apen en niet in andere diersoorten. Dit is van belang voor het testen van behandelingen die ingrijpen op het vroege ziekteproces [9, 15]. Verder ontstaat er alleen in apen de door L-DOPA veroorzaakte bijwerkingen van dyskinesia [17]. Het MPTP-model in de marmosetaap bootst zowel de selectieve hersenschade als de optredende Parkinsonsymptomen na [11] en is daarom geschikt voor de idiopathische vorm van de ziekte van Parkinson. Daarnaast is de aap geschikt voor gedragsonderzoek om klinisch relevante gedragstaken te testen. Voorbeelden van test methodes die speciaal voor de aap ontwikkeld zijn: de hand-oog coördinatie taak, de locomotor activiteit, de 24-uurs activiteit voor het circadiane ritme, opricht reflex, spring activiteit voor akinesia (opstarten van een beweging), cognitie met behulp van een touch screen computertaak, slaap gedrag met behulp van telemetrische hersenactiviteit registratie [9, 13, 21-23]. Een ander belangrijk aspect in het marmoset model is de overeenkomst in hersenstructuur tussen aap en mens. Een belangrijke hersengebied betrokken bij de bewegingscoördinatie is het striatum. Bij de apen en de mens bestaat deze uit meerdere structuren. In knaagdieren is dit slechts een enkelvoudige structuur waardoor er geen onderscheid bestaat tussen het putamen en de caudate nucleus [10, 19-20].

Het MPTP-model in marmosets dat toegepast wordt in dit project is het resultaat van een stapsgewijs verfijningsproces en heeft zich de afgelopen twee decennia ontwikkeld tot een zeer solide en valide model voor de ziekte van Parkinson [5, 11, 13-15].

Tabel 1. Effect overzicht van MPTP-geïnduceerde ziekte van Parkinson in verschillende species

Effect	Soort				
	Rat	Muis	Kat	Aap	Mens
Pre-Klinische symptomen (zoals slaapstoornis)	-	-	?	+	+
Klinische symptomen	-	2 dagen	2 weken	Persistent	Persistent
Schade aan substantie nigra (dopamine-producerende cellen)	-	+	+	+	+
L-DOPA-geïnduceerde dyskinesia	-	-	-	+	+

Er zullen twee varianten van het MPTP-inductie protocol gevolgd worden: het meest gangbare subacute model waarbij MPTP binnen een tijdsspanne van 2 weken wordt toegediend [10, 13, 24-25], en een chronisch progressief model waarbij lage doseringen MPTP een- tot tweemaal wekelijks wordt toegediend gedurende 2 tot 12 weken [15, 26]. Het chronische progressief model wordt gebruikt om ziekte beïnvloedende factoren te testen en inzicht te krijgen over de moleculaire veranderingen tijdens de ziekteprogressie. Door de langzame ziekte inductie over meerdere weken is er ruimte om een geneesmiddelmiddel, die de ziekte afremt, te kunnen testen. Bij het sub-acute inductie protocol wordt de ziekte binnen een tijdsbestek van twee weken geïnduceerd waardoor al vrij snel de volledige symptomen waarneembaar zijn. Het subacute model is daarom vooral geschikt voor het testen van anti-Parkinson middelen (symptoom onderdrukkende middelen) en therapieën tegen dyskinesie. Het is namelijk alleen mogelijk om dyskinesie te induceren met L-DOPA in de aanwezigheid van een beschadigde substantia nigra. Dit kan je het snelst bereiken door snelle inductie gevolgd door herhaalde L-DOPA toedieningen.

Voorbeelden van type studies waarin het marmoset MPTP-model ingezet wordt zijn:

- Onderzoek aan geneesmiddelen/behandelingen die met de huidige technologieën steeds specifiek voor de mens worden gemaakt waardoor ze in knaagdieren hun aangrijpingspunt niet meer herkennen en in apen wel.
- Onderzoek aan behandelingen die het ziekteproces veranderen waarbij de ziekte progressie gevolgd moet worden op basis van motorische en niet-motorische symptomen. Bij knaagdieren treedt een spontaan herstel van de symptomen op waardoor het volgen van het verloop van de ziekte niet mogelijk is.
- Studies aan de premotor fase waarin nog geen sprake is van verstoring van motorfuncties. Dit is belangrijk om de progressie te verminderen en ziekteontwikkeling te voorkomen. In de marmosetaap zijn preklinische symptomen aangetoond, zoals slaapverstoring, die al optreden voor de motorische symptomen. In de mens zie je ook al tijdens de preklinische fase slaapverstoring en kan middels een PET-CT scan dopamine vermindering worden aangetoond, waardoor een toekomstige behandeling vroeg kan worden ingezet.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

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

De ziekte van Parkinson is een ernstig invaliderende ziekte bij de mens waarvoor op dit moment slechts beperkte behandelingen beschikbaar zijn. Deze behandelingen bestrijden echter alleen de symptomen en vertonen na verloop van tijd ernstige bijwerkingen. In dit project wordt de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes tegen de ziekte van Parkinson onderzocht in een diermodel voor deze ziekte, namelijk het MPTP-model in de marmosetaap. De resultaten van deze studies worden gebruikt voor selectie van kandidaat geneesmiddelen voor verdere klinische studies. Een potentieel nieuwe therapie wordt alleen onderzocht in het aapmodel als in andere diermodellen geen ernstige bijwerkingen naar voren gekomen zijn en er aanwijzingen zijn dat het middel effectief kan zijn tegen de ziekte van Parkinson. Het concrete doel van dit project is selectie van nieuwe therapieën voor de ziekte van Parkinson voor verdere klinische studies. Het is de verwachting dat binnen de looptijd van dit project 6 nieuwe methoden onderzocht gaan worden. Het uiteindelijke doel van het onderzoek is dat therapieën beschikbaar komen waarmee de symptomen van de ziekte van Parkinson voor de patiënt worden verlicht en de verdere achteruitgang wordt verminderd of voorkomen.

Binnen het instituut bestaat uitgebreide ervaring met het werken met niet-humane primaten en grote expertise op het gebied van het marmoset MPTP-model. De hoofdonderzoeker heeft meer dan 20 jaar ervaring met het marmoset MPTP-model [5, 13, 15, 26-31].

De infrastructuur en de expertise zijn aanwezig om deze studies veilig en binnen de gestelde termijn uit te voeren.

Referenties bij 3.1 en 3.2

1. Mehanna, R., Moore, S., Hou, J.G., Sarwar, A.I., Lal, E.C. (2014) Comparing clinical features of young onset, middle onset and late onset Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 20:530-534
2. Gasser, T. (2005) Genetics of Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol* 18:363-369
3. Tolosa, E., Gaig, C., Santamaria, J. & Compta, Y. (2009). Diagnosis and the premotor phase of Parkinson disease. *Neurology*, 72, S12-20
4. Jellinger, K.A. (2008). Neuropathological aspects of Alzheimer disease, Parkinson disease and frontotemporal dementia. *Neurodegener Dis*, 5, 118-121
5. 10.2.g
6. Alexander, G.E. & Crutcher, M.D. (1990). Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci*, 13, 266-271
7. Iranzo, A., Molinuevo, J.L., Santamaria, J., Serradell, M., Marti, M.J., Valdeoriola, F. & Tolosa, E. (2006). Rapid-eye-movement sleep behaviour disorder as an early marker for a neurodegenerative disorder: a descriptive study. *Lancet Neurol*, 5, 572-577
8. Postuma, R.B., Lang, A.E., Massicotte-Marquez, J. & Montplaisir, J. (2006). Potential early markers of Parkinson disease in idiopathic REM sleep behavior disorder. *Neurology*, 66, 845-851
9. Verhave, P.S., Jongsma, M.J., Van den Berg, R.M., Vis, J.C., Vanwersch, R.A.P., Smit, A.B., Someren, E.J.W. & Philippens, I.H.C.H.M. (2011). REM sleep behavior disorder in the marmoset MPTP model of early Parkinson disease. *Sleep*, 34(8): 1119-1144
10. Jenner, P. (2003). The contribution of the MPTP-treated primate model to the development of new treatment strategies for Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, 9, 131-137
11. 10.2.g
12. Langston, J.W., Ballard, P., Tetrud, J.W. & Irwin, I. (1983). Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science*, 219, 979-980

13. van Vliet, S.A.M., Vanwersch, R.A.P., Jongsma, M.J., van der Gugten, J., Olivier, B. & Philippens, I.H.C.H.M. (2006). Neuroprotective effects of modafinil in a marmoset Parkinson model: behavioral and neurochemical aspects. *Behav Pharmacol*, 17, 453-462
14. Philippens, I.H.C.H.M. and Verhave, P.S. (2011). Preclinical Solutions for Insight in Premotor Parkinson. InTech: Symptoms of Parkinson's Disease, Rana, AQ (Ed.), ISBN: 978-953-307-464-1.

15.

10.2.g

16. Schmidt, N. & Ferger, B. (2001). Neurochemical findings in the MPTP model of Parkinson's disease. *J Neural Transm*, 108, 1263-1282
 17. Visanji, N.P., Gomez-Ramirez, J., Johnston, T.H., Pires, D., Voon, V., Brotchie, J.M. & Fox, S.H. (2006). Pharmacological characterization of psychosis-like behavior in the MPTP-lesioned nonhuman primate model of Parkinson's disease. *Mov Disord*, 21, 1879-1891
 18. Javitch, J.A., D'Amato, R.J., Strittmatter, S.M., Snyder, S.H. (1985). Parkinsonism-inducing neurotoxin, N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine: uptake of the metabolite N-methyl-4-phenylpyridine by dopamine neurons explains selective toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 82, 2173-2177
 19. Eslamboli, A. (2005). Marmoset monkey models of Parkinson's disease: which model, when and why? *Brain Res Bull*, 68, 140-149
 20. Hardman, C.D., Henderson, J.M., Finkelstein, D.I., Horne, M.K., Paxinos, G. & Halliday, G.M. (2002). Comparison of the basal ganglia in rats, marmosets, macaques, baboons, and humans: volume and neuronal number for the output, internal relay, and striatal modulating nuclei. *J Comp Neurol*, 445, 238-255
 21. Philippens, I.H., Melchers, B.P., Roeling, T.A., Bruijnzeel, P.L. (2000) Behavioral test systems in marmoset monkeys. *Behav Res Methods Instrum Comput* 32: 173-179
 22. Verhave, P.S., Vanwersch, R.A.P., van Helden, H.P., Smit, A.B. & Philippens, I.H.C.H.M. (2009). Two new test methods to quantify motor deficits in a marmoset model for Parkinson's disease. *Behav Brain Res*, 200, 214-219
 23. Spinelli, S., Pennanen, L., Dettling, A.C., Feldon, J., Higgins, G.A., Pryce, C.R. (2004). Performance of the marmoset monkey on computerized tasks of attention and working memory. *Brain Res Cogn Brain Res*. 19(2):123-37
 24. Kuroiwa, H., Yokoyama, H., Kimoto, H., Kato, H., Araki, T. (2010) Biochemical alterations of the striatum in an MPTP-treated mouse model of Parkinson's disease. *Metab Brain Dis* 25: 177-183
 25. Rose, S., Nomoto, M., Jackson, E.A., Glbb, W.R., Jaehnig, P., Jenner, P., Marsden, C.D. (1993) Age-related effects of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine treatment of common marmosets. *European journal of pharmacology* 230: 177-185
 26. Verhave, P.S., Jongsma, M.J., Van Den Berg, R.M., Vanwersch, R.A.P., Smit, A.B., Philippens, I.H.C.H.M. (2012). Neuroprotective effects of riluzole in early phase Parkinson's disease on clinically relevant parameters in the marmoset MPTP model. *Neuropharmacol*. 62(4):1700-1707
 27. van Vliet, S.A., Vanwersch, R.A., Jongsma, M.J., Olivier, B., Philippens, I.H. (2008) Therapeutic effects of Delta9-THC and modafinil in a marmoset Parkinson model. *Eur Neuropsychopharmacol*. 18(5),383-9.
 28. van Vliet, S.A.M., Blezer, E.L., Jongsma, M.J., Vanwersch, R.A.P., Olivier, B. & Philippens, I.H.C.H.M. (2008). Exploring the neuroprotective effects of modafinil in a marmoset Parkinson model with immunohistochemistry, magnetic resonance imaging and spectroscopy. *Brain Res*, 1189, 219-228
 - 29.
- 10.2.g
- 30.
- 10.2.g
31. Franke, S.K., van Kesteren, R.E., Hofman, S., Wubben, J.A., Smit, A.B., Philippens, I.H. (2016) Individual and Familial Susceptibility to MPTP in a Common Marmoset Model for Parkinson's Disease. *Neurodegener Dis*. 16(5-6),293-303.

3.3 Belang

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

In Nederland leven ongeveer 32.000 mensen met de ziekte van Parkinson, dat is op dit moment 1 op de 500 mensen. Aangezien het een ouderdoms ziekte is, wordt er op korte termijn een verdubbeling verwacht vanwege de vergrijzende samenleving. De ziekte treft vooral ouderen vanaf 55 jaar, die nog lang een bijdrage aan de maatschappij hadden kunnen leveren. Voor de Parkinsonpatiënt betekent dit een verminderde kwaliteit van leven met ernstige incapacitatie van beweging en complicaties zoals ernstige depressie, slaapverstoring, cognitieve achteruitgang, constipatie en incontinentie. Aangezien deze patiënten aangewezen zijn op de hulp van anderen beïnvloedt deze ziekte ook hun directe omgeving. Naarmate de ziekte vordert is zelfstandig wonen niet meer mogelijk maar is intensieve begeleiding noodzakelijk.

De huidige therapieën die ontwikkeld zijn tegen de ziekte van Parkinson onderdrukken slechts de symptomen. Aangezien de ziekte progressief is wordt de ernst van de symptomen alleen maar erger waardoor steeds meer medicatie nodig is voor hetzelfde effect. Hierdoor ontwikkelt zich tolerantie voor het medicijn en moet de patiënt tussendoor regelmatig overstappen op andere medicijnen. Tevens hebben de huidige therapieën veel bijwerkingen zoals hallucinaties en onwillekeurige ongecontroleerde bewegingen, die we dyskinesia noemen. Omdat de ziekte een ernstig verslechterend verloop heeft en de incidentie door de groeiende vergrijzing toeneemt, is het belangrijk dat de ontwikkeling van nieuwe therapieën tegen de ziekte van Parkinson blijft doorgaan. Het marmoset MPTP-model draagt daaraan bij door enerzijds het testen van de effectiviteit van nieuwe behandelmethoden (maatschappelijk belang) maar anderzijds ook doordat onderzoek in het model informatie oplevert over het mechanisme wat ten grondslag ligt aan de ziekte (wetenschappelijk belang) en daarmee nieuwe aanknopingspunten voor behandeling gevonden kunnen worden. Bovendien kan met het onderzoek ook ongewenste nevenwerkingen van het medicijn worden ontdekt, zoals in eerdere studies met het marmoset MPTP model is gevonden. Deze informatie is van belang voor het verdere traject van de kandidaatsstof voor klinisch gebruik.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Het project zal bestaan uit meerdere Parkinson-studies waarin per studie één groep marmosets dient als controle en een of meerdere groepen marmosets worden behandeld met de te testen behandeling. In elke studie zal gekeken worden naar de klinische score, diverse gedragsparameters voor motor en niet-motor gerelateerde functies, en de pathologie in het brein. Wanneer nodig zal er voorafgaand aan de Parkinson-studie een dosis-bepaling studie worden uitgevoerd om de dosis en/of toedieningsschema van de therapie te bepalen. Nieuwe middelen worden alleen in het MPTP model onderzocht als er aanwijzingen zijn dat de stof werkzaam kan zijn en er geen aanwijzingen zijn dat de therapie ernstige bijwerkingen kan geven.

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

Bepaling van farmacokinetiek en dosis van nieuwe therapieën op relevante gedrags biomerkers in gezonde marmosets (Bijlage 1):

Indien nog niet bekend, zal het nieuwe middel eenmalig worden ingespoten in gezonde marmosets om de in het bloed circulerende concentratie van het medicijn te bepalen. Herhaaldelijke bloedafnames over de tijd geeft informatie over de bloedspiegel van de teststof over de tijd. Dit is van belang voor de evaluatie van de behandeling in het marmoset MPTP-model. Vervolgens kunnen meerdere doseringen worden vergeleken op relevante biomerkers, zoals verandering in gedrag (bv activiteit), tijdens het optimale moment na toediening. De hoogste dosis die de minste bijwerkingen laat zien wordt gekozen om te testen in het MPTP-model.

Therapie evaluatie in het marmoset MPTP-model (Bijlage 2):

Om de ziekte van Parkinson te induceren worden marmosetapen herhaald geïnjecteerd met MPTP in een dosis variërend tussen de 0,5 en 2 mg/kg (totale dosis van 7-12 mg/kg). Afhankelijk van het tijdsinterval tussen de injecties spreken we van een subacuut inductie protocol, wat leidt tot een duidelijk klinisch beeld van Parkinson-symptomen binnen twee weken, of een chronisch inductie protocol, waarbij slechts 1-2 injecties per week worden toegediend en de Parkinsonsymptomen progressief verlopen. Het subacuut model wordt gebruikt om anti-parkinson middelen te testen. Dit zijn behandelingen die de symptomen onderdrukken. Het chronische model is geschikt om ziekte beïnvloedende factoren te testen. Dit kunnen medicijnen zijn die de ziekte ontwikkeling afremmen, maar ook het effect van risicofactoren zijn (bv bepaalde voeding of slechte slaap) die de ziekteontwikkeling versnellen. Tijdens en na de inductiefase zullen de dieren dagelijks worden geobserveerd op klinische symptomen behorend tot de ziekte van Parkinson. Indien de hoeveelheid teststof in het bloed gemeten moet worden zal tijdens de dierproef een bloedmonster worden afgenomen. Aan het eind van de studie of wanneer het humane eindpunt is bereikt, worden de dieren geëuthanaseerd waarna het centrale zenuwstelsel wordt onderzocht op de pathologie behorende bij de ziekte van Parkinson. Afhankelijk van de behandeling zullen naast de hersenen ook andere organen, zoals de lever of nier, worden onderzocht op mogelijke neveneffecten van de behandeling.

De behandelingen die worden getest in het marmoset MPTP-model, moeten aan de volgende criteria voldoen:

1. Een medicijn mag niet toxisch zijn dat het ernstige nevenwerkingen, die sterker invaliderend zijn dan de ziekte van Parkinson, veroorzaakt. Vóórdat deze in het aapmodel worden gebruikt moet zij eerst uitgebreid *in vitro* (celkweek) of in kleine proefdieren getest zijn op de afwezigheid van toxiciteit.
2. De therapie is ontwikkeld voor een humaan doel/target molecuul, maar zal ook in de marmoset hetzelfde target molecuul moeten herkennen.
3. Het beoogde target moet vanuit wetenschappelijk oogpunt een bijdrage leveren over de kennis van de ziekte van Parkinson. Het onderzoek van een behandelmethode moet daarom het inzicht over het werkingsmechanisme dat ten grondslag ligt aan de ziekte van Parkinson vergroten.
4. De therapie is specifiek voor primaten waardoor het niet in een ander diersoort kan worden getest. Of de therapie kan niet afdoende worden getest in een ander diersoort vanwege beperkte validiteit in deze diermodellen. Te denken valt aan symptoombestrijding die bij knaagdieren en katten niet getest kan worden omdat de symptomen al spontaan verdwijnen.

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

Een therapie kan meteen in het marmoset MPTP-model getest worden als er uit eerdere *in vitro* of *in vivo* studies een indicatie is voor een te testen concentratie en toedieningsschema (Bijlage 2). Indien dit niet het geval is kan er voorafgaand aan een therapie evaluatie eerst een dosis- en/of farmacokinetiek bepaling in marmosetapen nodig zijn om de dosis en/of toedieningsschema te bepalen (Bijlage 1). In veel gevallen wordt een teststof door een externe partij aangeleverd om te testen in het MPTP-model. Op dat moment is de teststof al uitgebreid onderzocht op veiligheid en toxiciteit in knaagdieren en zijn er aanwijzingen dat het middel effectief zal kunnen zijn tegen de ziekte van Parkinson. Het kan ook voorkomen dat een aangrijpingspunt voor behandeling onderzocht wordt waarbij gebruik gemaakt wordt van een teststof waarvan bekend is dat deze stof hierop aangrijpt. Hierdoor hopen we nieuwe aanknopingspunten voor de behandeling van de ziekte van Parkinson te kunnen ontdekken ten einde nieuwe medicijnen te kunnen ontwikkelen.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Bepaling van PK en dosis van nieuwe therapieën op relevante gedrags biomerkers in gezonde marmosets.

2	Therapie evaluatie in het marmoset MPTP model.
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Bijlage Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	50200				
1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Biomedical Primate Research Centre				
1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in. <i>Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.</i>	<table border="1"><thead><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>Bepaling van farmacokinetiek en dosis van nieuwe therapieën op relevante gedrags biomerkers in gezonde marmosets.</td></tr></tbody></table>	Volgnummer	Type dierproef	1	Bepaling van farmacokinetiek en dosis van nieuwe therapieën op relevante gedrags biomerkers in gezonde marmosets.
Volgnummer	Type dierproef				
1	Bepaling van farmacokinetiek en dosis van nieuwe therapieën op relevante gedrags biomerkers in gezonde marmosets.				

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Dit project bestaat uit twee onderdelen: a) het vaststellen van veranderingen in bloedspiegels van de teststof over de tijd (farmacokinetiek) en b) het bepalen van de dosis waarbij geen gedragsveranderingen optreden die in de therapie evaluatiestudie (Bijlage 2) de waarnemingen zouden kunnen verstoren.

Dit project wordt alleen gedaan indien de optimale werkingstijd en/of het dosis afhankelijke effect op relevante gedragsparameters van een nieuwe potentiële therapie voor de ziekte van Parkinson niet bekend is.

- In het geval van de farmacokinetiek, wordt als primaire uitkomstparameter de aanwezige circulerende niveaus van de teststof in bloed bepaald door regelmatige bloedafname over de tijd. Hierdoor kan het moment waarop de hoogste plasma-niveaus van de teststof in de marmosetaap bereikt zijn worden vastgesteld. Dit wordt gebruikt voor het afstemmen van het tijdstip voor het uitvoeren van de testen in de dosis bepaling en uiteindelijk in de therapie evaluatiestudie (Bijlage 2).
- In het geval van de dosis bepaling van de teststof wordt als primaire uitkomstparameter gekeken naar relevante gedragsveranderingen die ook in de therapie evaluatiestudie (Bijlage 2) zullen worden gemeten. Hierdoor kan worden vastgesteld of en bij welke dosis beïnvloeding van de te meten parameter plaats vindt. De hoogste dosis waarbij geen effect op het gedrag te zien is wordt gekozen voor de therapie evaluatiestudie (Bijlage 2). Als secundaire parameter kan het effect op bloedchemie of celtypes in bloed of hersenen worden onderzocht. Indien organen of hersenen geanalyseerd moeten worden, worden de dieren gedood als onderdeel van de studie.

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

- Voor bloedafname of toediening van een teststof en bepaling van het lichaamsgewicht worden de dieren in een speciale koker of balconybox uitgevangen. De dieren worden voor aanvang van het experiment getraind om hieraan vrijwillig mee te werken zodat stress vermeden wordt.
- De toedieningsroute van een teststof wordt per studie bepaald en is afhankelijk van de aard van de teststof. Soms wordt ook een referentie stof in de studie meegenomen. Van zo'n stof is het effect bekend en dient ter vergelijking van de teststof. Tijdens een experiment zal er één toedieningsroute worden gebruikt. Afhankelijk van de toedieningsroute zal de teststof eenmalig of herhaaldelijk worden gegeven. Mogelijke toedieningsroutes zijn intraveneus (i.v.), subcutaan (s.c), intramusculair (i.m), intranasaal (i.n.), oraal of intracraniaal (i.c.). Een i.c. toediening wordt alleen gebruikt als een teststof eenmalig lokaal moet worden toegediend omdat het in de huidige samenstelling niet door de bloed-hersen barrière kan om het werkingsmechanisme van de stof te testen of indien het middel lokaal moet worden toegediend, bijvoorbeeld virale vector therapie. Wanneer mogelijk (in het geval van i.v., s.c., i.m., oraal en i.n.) zal dit zonder sedatie worden uitgevoerd om het dier het ongerief van sedatie te besparen.
- Na de toedieningen zal bloed worden afgenomen. In het geval van de farmacokinetiek bepaling kunnen dit meerdere kleine bloedafnames zijn (< 200 µl, zonder sedatie) in een bepaalde tijdspanne na de toediening. In het geval van dosis bepaling zullen er grotere bloedafnames (0.5 – 2 ml, onder sedatie) plaatsvinden. Er wordt per keer nooit meer dan 0,7% van het lichaamsgewicht aan bloed afgenomen en nooit meer dan 1% binnen een tijdspanne van 4 weken. Tijdens de bloedafnames zullen de dieren ook worden gewogen. Gedurende de gehele studie worden de dieren regelmatig (minimaal 1x/week) gewogen omdat lichaamsgewicht een belangrijke welzijnsparemetrie is. De dieren worden getraind om vrijwillig aan deze handeling mee te werken.
- Voor en een tot twee uur na toediening wordt het gedrag van de dieren geobserveerd zoals activiteit, interesse in hun omgeving (apathie), aantal 'body postures' zoals geurafzetting, tonen van geslachtsdelen, teruggetrokken houding achterin de kooi.
- Indien directe effecten in de hersenen gemeten moeten worden dan zal de marmoset op een vast tijdstip na toediening gedood worden na volledige sedatie, om over hersenmateriaal te kunnen beschikken voor verdere analyse.

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

Voor een farmacokinetiek en/of dosis bepaling wordt geen statistische methode gebruikt in de zin van een power analyse. Een testgroep voor een farmacokinetiek bepaling zal bestaan uit een gelimiteerd aantal dieren (n=3-4 per groep) gebaseerd op ervaringen uit eerdere studies waaruit blijkt dat de farmacokinetiek profielen zeer consistent zijn tussen dieren. Afhankelijk van de teststof en de te verwachte spreiding wordt het aantal dieren 3 of 4. In het geval dat een teststof een hormonale beïnvloeding heeft en in de studie beide seksen worden gebruikt kan de spreiding groter zijn.

Het effect van een teststof op het biologische systeem (dosisbepaling) is meer variabel tussen dieren en vereist daarom groepsomvang van 4 of 5 dieren, afhankelijk van de therapie en de uitkomstparameters. In de meeste situaties worden twee doseringen van de teststof onderzocht om de meest optimale dosis te kunnen vaststellen. Elk dier is zijn eigen controle. Herhaalde waarnemingen met verschillende doseringen binnen een dier verkleint de spreiding van het effect waardoor het effect nauwkeuriger kan worden vastgesteld. Maar in voorkomende gevallen waarbij het effect op de hersenen wordt vergeleken met de gezonde naïeve situatie is ook een negatieve controlegroep nodig (hersenen kunnen slechts eenmaal per dier worden onderzocht). De controle hersenen zullen zo veel mogelijk uit de beschikbare biobank worden betrokken.

B. De dieren

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

Common marmoset (*Callithrix jacchus*), volwassen (> 2 jaar), M/V, uit de eigen fokkolonie, n=32
Omdat de therapeutische studie (Bijlage 2) in volwassen marmosetapen wordt uitgevoerd, wordt ook voor de farmacokinetiek en de dosisbepaling de marmoset ingezet (> 2 jaar). Het gemiddelde aantal dieren per testgroep is 4 (voor de farmacokinetiek bepaling 3 tot 4 dieren en voor de dosisbepaling 4 tot 5 dieren).

Geschatte aantal studies in 5 jaar: 4. Iedere studie zal worden uitgevoerd met een geschat aantal van 4 marmosetapen per groep. Er zullen maximaal twee concentraties per therapie worden getest. In totaal zijn er dan 4 (aantal studies) x 8 (farmacokinetiek en dosisbepaling) = maximaal 32 marmosetapen in 5 jaar nodig. Waar mogelijk is elk dier zijn eigen controle.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

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

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

X Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging

In veel gevallen wordt een teststof door een externe partij aangeleverd om te testen in het MPTP-model. Een therapie kan meteen in het marmoset MPTP-model getest worden als er uit eerdere *in vitro* of *in vivo* studies met knaagdieren een indicatie is voor een te testen concentratie en toedieningsschema. De hieruit vastgestelde gegevens kunnen worden gebruikt voor een indicatie voor de dosis en het tijdstip voor het optimale effect van de stof in de marmosetaap. Echter wanneer dit niet voldoende informatie oplevert voor een therapie evaluatie in het MPTP-model, dient er voorafgaand aan een therapie evaluatie (Bijlage 2) eerst een farmacokinetiek en/of dosisbepaling op relevante gedrags biomerkers in de gezonde marmosetaap gedaan te worden. Op dit moment zijn er geen *in vitro* modellen (zoals cellijnen, organoïds) beschikbaar voor het marmoset model om de opname, bio-beschikbaarheid etc. van de nieuwe middelen te onderzoeken.

Vermindering

Een farmacokinetiek of een dosis bepaling op relevante gedrags biomerkers zal worden gedaan met het minimumaantal dieren dat nodig is. In het algemeen kan een farmacokinetiek studie met drie tot vier dieren volstaan. Het leidt vooral tot vermindering van het aantal dieren in de daaropvolgende MPTP-studie. Zo is het bijvoorbeeld dan niet nodig om twee concentraties in een ziekte van Parkinson therapie-evaluatie studie te testen, omdat in de dosis bepaling al de optimale dosis is vastgesteld.

Verfijning

Er is veel geïnvesteerd in micro-methodes om zoveel mogelijk informatie te krijgen uit beperkte bloedvolume zodat de dieren niet hoeven te worden gesedeerd. Ook worden de dieren getraind om zo veel mogelijk vrijwillig mee te werken aan bijv. uitgangprocedures, bloedafnames of toedieningen. De dieren worden altijd sociaal gehouden in een voor de marmoset geschikte, verrijkte omgeving.

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

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

Welzijn: Tijdens de studie zullen de dieren dagelijks worden geobserveerd door gekwalificeerde en ervaren diervverzorgers. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust, of ontlasting, dan wordt de veterinaire hiervan direct op de hoogte gesteld. Door trainen van dieren en het zoveel mogelijk gebruik maken van micro-methodes voor analyses waardoor weinig bloed nodig is wordt sedatie waar mogelijk vermeden.

Dit project wordt uitgevoerd binnen de huidige wet en regelgeving. Er zijn geen milieueffecten te verwachten. Indien er met toxische stoffen wordt gewerkt zal de betreffende regelgeving worden gehanteerd waardoor de veiligheidsvoorzieningen zorgvuldig gehanteerd worden met een adequaat afvalbeheer.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

Niet van toepassing.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

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

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. ongerief door toediening teststof
2. ongerief door sedatie en ontwaken uit sedatie
3. ongerief door herhaald bloedafname

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. De toediening van een teststof kan, afhankelijk van de toedieningsroute, lokale pijn en irritatie veroorzaken.
2. Voor sedatie moet het dier nuchter blijven. Ook het ontwaken uit sedatie kan vervelend zijn alsmede de temperatuurverlaging tijdens sedatie.
3. Het uitvangen en hanteren voor een zogenaamde vingerprik voor een kleine hoeveelheid bloed in het ongesedeerde dier kan stress veroorzaken. Grotere hoeveelheden bloed worden onder sedatie afgenomen (zie punt 2 hierboven).

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

1. Alle dieren worden intensief getraind om te wennen aan de experimentele procedures. Ongerief van inspuitingsplaatsen zal naar verwachting licht zijn. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts medicatie worden toegepast. Intracraniale toediening vindt plaats onder algehele verdoving.
2. Dieren liggen tijdens het bijkomen uit de sedatie op een warmtemat ter voorkoming van temperatuurverlaging.
3. Door trainen van dieren en het zo veel mogelijk gebruik maken van micro-methodes voor analyses waardoor weinig bloed nodig is wordt sedatie waar mogelijk vermeden.

J. Humane eindpunten

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

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Over het algemeen zijn er geen ernstige effecten te verwachten bij een farmacokinetiek en dosisbepaling. In geval een dier onverwacht ernstig ziek wordt en niet behandeld kan worden, dan zal dit als eindpunt gelden en wordt het dier gedood. In dat geval zal het ongerief maximaal matig zijn.

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

Uit eerdere studies is dit nog niet eerder voorgevallen, daarom verwachten wij dat het percentage onder de 1 % zal liggen.

K. Classificatie van ongerief

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

Het cumulatieve ongerief wordt geclassificeerd als matig.

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee

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

Alleen in de studies waarbij de biologische respons van de teststof op de hersenen en mogelijk andere organen onderzocht moet worden zullen de dieren aan het eind van een studie worden gedood. Geschat wordt dat dit om één studie binnen 5 jaar gaat.

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

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja



Bijlage Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 50200
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Biomedical Primate Research Centre
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|--|
| 2 | Therapie evaluatie in het marmoset MPTP-model. |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Dit project omvat het translationeel gebruik van een gevalideerd diermodel voor de ziekte van Parkinson, namelijk het MPTP-model in de common marmoset (*Callithrix jacchus*, het penseelaapje). Voor de MPTP-studies gaan wij uit van de opzet en model zoals gebruikt in eerdere succesvol verlopen MPTP-studies [1-5].

Bij de dieren wordt de ziekte van Parkinson geïnduceerd met MPTP. Daarbij zal in een of meerdere groepen dieren de experimentele behandeling worden toegediend en in een groep dieren een controle behandeling. Afhankelijk van de vraagstelling wordt gestart met de behandeling (therapie en controle) voor, tijdens of na de ziekte-inductie met MPTP. MPTP wordt subcutaan geïnjecteerd in een huidplooi van de buikwand. De ziekte-inductie bestaat uit meerdere injecties van MPTP (0,5-2 mg/kg). Afhankelijk van het inductieprotocol zal MPTP binnen een periode van 2 weken worden toegediend (maximale cumulatieve dosis van 9 mg/kg; subacute model) of gedurende 2-12 weken (maximale cumulatieve dosis van 12 mg/kg; chronisch progressief model).

De primaire uitkomstparameter is de mate van het optreden van klinische symptomen zoals immobilität, apathie, tremoren en stijfheid, of het optreden van de dyskinesie in armen, benen of romp. De verschillende verschijnselen worden gescoord op een schaal van 0 (niet aanwezig), 1 (wel aanwezig in hele milde vorm en normaal voor het specifieke dier), 2 (aanwezig in een milde vorm), 3 (aanwezig in een heftigere vorm dan mild maar minder heftig dan ernstig) tot 4 (ernstig aanwezig). Het betreft objectieve, betrouwbare en gestandaardiseerde systematische observaties die een goede maat vormen voor de ziekteprogressie en de mate van dyskinesia. Deze klinische symptomen worden dagelijks gemonitord tijdens de ziekte inductie en later minstens driemaal per week. Daarnaast worden er als secundaire uitkomstparameters ook andere gedragsparameters voor bijvoorbeeld motorische functies of cognitie gemeten met behulp van gedragsopstellingen. Voor de marmosetaap zijn diverse niet-invasieve gedragstesten ontwikkeld waarbij

motor gerelateerde functies gekwantificeerd kunnen worden. Deze taken kunnen op een standaard manier worden uitgevoerd zonder extra variabele zoals de beïnvloeding van een observator. Voorbeelden van enkele gevalideerde testen zijn: De 'Bungalow test' voor exploratief locomotor activiteit. De dieren kunnen zich vrij bewegen in een opstelling bestaande uit vier compartimenten die allen met elkaar verbonden zijn. Het aantal wisselingen van compartiment wordt als een maat voor activiteit in deze opstelling genomen [1-5]. De Toren klimtest voor het testen van het spring gedrag en activiteit. Deze bestaat uit een hoge kast met een transparante voorzijde. In de kast bevinden zich horizontale stokken waar de aap op kan springen zoals in een boom. In deze opstelling maken we gebruik van de natuurlijke motivatie van marmosetapen om in bomen te klimmen. De afstand tussen de stokken neemt toe (en dus wordt het springen moeilijker) naarmate ze hoger gepositioneerd zijn [1,4,6]. De 'Hourglass test' voor het meten van de opricht-reflex en het kunnen bewegen (akinesia). Deze test bestaat uit een koker voor marmosets die 180 graden wordt gedraaid waardoor de aap ondersteboven komt te staan. De tijd die nodig is om de positie te herstellen wordt geregistreerd [1,4,6]. De hand-oog coördinatie test waarbij het aapje een marshmallow beloning van een bewegende robotarm moet afhalen. Uniek voor de aap is het overeenkomstige handgebruik voor grijpen zoals bij de mens. De robot beweegt met verschillende snelheden [1,2,4,5]. CANTAB voor cognitie waarbij de aap met behulp van een touchscreen verschillende taken kan uitoefenen vanuit zijn thuishoek, zoals visuele discriminatie (keuze maken uit twee symbolen) of delayed-match-to-sample waarbij de aap moet herinneren welk symbool eerst was gepresenteerd en daarna deze moet kiezen uit meerdere gepresenteerde symbolen. Voor veel van de cognitietaken is de prefrontale cortex van belang die vooral bij mensen en apen goed ontwikkeld is.

Voor de ziekte inductie worden de dieren eerst gehabitueerd aan gedragsopstellingen en daar waar nodig (bijvoorbeeld bij een leertaak zoals de hand-oog coördinatie taak) getraind. Van alle gedragstaken worden basiswaarden gemeten van het, dan nog, naïeve dier. Tijdens en na ziekte inductie worden deze gedragstaken herhaald uitgevoerd om het verloop (progressie) van de ziekte te kunnen volgen en het effect van een behandeling te kunnen meten.

Indien de onderzoeksvraag gericht is op het voorkomen of verminderen van dyskinesie (ongecontroleerde onwillekeurige bewegingen), wat optreedt als gevolg van de huidige therapie met Levodopa (L-DOPA) bij de ziekte van Parkinson, dan wordt naast de MPTP ook tweemaal dagelijks L-DOPA oraal toegediend. Na een toedieningsperiode van tenminste 3 weken zal de L-DOPA geïnduceerde dyskinesie optreden. De dyskinesie treedt alleen op in dieren met parkinsonisme, dus in MPTP behandelde dieren. Tijdens of na het induceren van dyskinesie met behulp van herhaalde L-DOPA toedieningen kunnen anti-d dyskinesie middelen getest worden. Dyskinesie wordt gescoord op basis van het optreden van onwillekeurige bewegingen van armen, benen of romp en gelaatsuitdrukkingen zoals hierboven beschreven staat.

Verder wordt post-mortem de ernst van de pathologie in de hersenen onderzocht. Deze wordt bepaald door histologische kwantificatie van functionerende dopamine producerende cellen in de substantia nigra.

Andere parameters kunnen zijn:

1. Verlies van lichaamsgewicht
2. Afwijkende hematologie en bloedchemie
3. Verlies van motorfunctie gemeten met diverse gedragstesten
4. Slaapstoornis als gevolg van de ziekte van Parkinson middels elektro-encefalogram (EEG) en/of een actimeter.
5. Positron emission tomography (PET)- scan in het gesedeerde dier om de hoeveelheid aanwezige dopamine in de hersenen te meten. Hiervoor wordt radioactieve label, zoals bijvoorbeeld [¹⁸F]6-fluoro-DOPA (F-DOPA), ingespoten wat het dopamine in de hersenen labelt en hierdoor zichtbaar wordt.

Referenties:

1. Verhave PS, Jongasma MJ, Van Den Berg RM, Vanwersch RAP, Smit AB, Philippens IHCHM (2012) Neuroprotective effects of riluzole in early phase Parkinson's disease on clinically relevant parameters in the marmoset MPTP model. *Neuropharmacol.* 62(4):1700-1707
2. van Vliet SAM, Vanwersch RAP, Jongasma MJ, van der Gugten J, Olivier B, Philippens IHCHM (2006) Neuroprotective effects of modafinil in a marmoset Parkinson model: behavioral and neurochemical

3. 10.2.g

4. Franke SK, van Kesteren RE, Hofman S, Wubben JA, Smit AB, Philippens IH (2016) Individual and Familial Susceptibility to MPTP in a Common Marmoset Model for Parkinson's Disease. *Neurodegener Dis.* 16(5-6):293-303

5. 10.2.g

6. Verhave PS, Vanwersch RA, van Helden HP, Smit AB, Philippens IH. (2009) Two new test methods to quantify motor deficits in a marmoset model for Parkinson's disease. *Behav Brain Res.* 200(1):214-9.
7. Guy W (1976) *ECDEU assessment manual for psychopharmacology.* Washington DC: US Department of Health, Education and Welfare; pp. 534-537

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

- Vóór de inductie van de ziekte van Parkinson wordt er bloed afgenomen voor het bepalen van individuele nul waarden. Na ziekte inductie zal enkele malen bloed worden afgenomen voor het bepalen van een veranderd bloedbeeld. Kleine bloedafnames worden bij ongesedeerde dieren afgenomen en grote bloedafnames worden uitgevoerd onder sedatie. Er zal nooit meer dan 0,7% van het lichaamsgewicht aan bloed per keer worden afgenomen en nooit meer dan 1% binnen een tijdspanne van 4 weken.
- Bij de dieren wordt de ziekte van Parkinson geïnduceerd door herhaalde subcutane injecties van MPTP in een huidplooi van de buikwand. Afhankelijk van het protocol worden herhaalde injecties (5-10) binnen 2 weken toegediend (subacuut protocol) of 1-2 injecties per week gedurende 2-12 weken (chronisch progressief protocol). Om dyskinesie te induceren krijgen de dieren na de MPTP-toedieningen tweedaags L-DOPA oraal toegediend. Dit is een standaardmethode voor de inductie van dyskinesie. Een studie duurt tussen de 6 weken en 6 maanden.
- Aangezien bij neurologische aandoeningen de hersenactiviteit kan veranderen, is de hersenactiviteit (gemeten met electroencephalogram (EEG)) een parameter om de ziekte inductie en het effect van de therapie hierop te kunnen meten. Voor het meten van het EEG, o.a. voor slaapanalyses, worden 3-4 weken voor aanvang van de studie onder algehele narcose, door het veterinaire team onder aseptische omstandigheden in de daarvoor ingerichte operatiekamer, een implanteerbare transmitter, voor telemetrische data acquisitie, met elektroden in de buikholte gebracht. De EEG-elektroden worden in de schedel geplaatst en de EMG-elektroden voor spierspanning in spierweefsel van de nek en schouder (t.b.v. het identificeren van de droom(REM)-slaap). Gedurende 3 dagen na de operatie krijgen de dieren pijnstilling om eventuele pijn ervaringen als gevolg van de operatie tegen te gaan en antibiotica 1 dag voorafgaand aan de operatie en enkele dagen erna.
- Voor bloedafname of toediening van MPTP of teststof of controle preparaat en gelijktijdige bepaling van het lichaamsgewicht worden de dieren uitgevangen. Zij worden voor aanvang van het experiment voor deze methode getraind. Daarnaast worden ze regelmatig gewogen in de thuishooi (vrijwillig na training).
- De klinische score behorend bij de ziekte van Parkinson wordt dagelijks gemonitord via observaties om de progressie van het ziekteverloop te kunnen volgen.
- Gedragstesten (voor en na ziekte inductie en tijdens of na toediening van een behandeling). Voor aanvang worden de dieren gehabitueerd aan de gedragsopstellingen en worden basiswaarden gemeten.
- De toedieningsroute van teststof of controle preparaat wordt per studie bepaald en is afhankelijk van de aard van de teststof. Afhankelijk van de toedieningsroute zal de teststof of controle preparaat eenmalig of herhaaldelijk worden gegeven. Wanneer de toediening zal starten is afhankelijk van de teststof en de vraagstelling, bijvoorbeeld een of meerdere dagen voor de inductie, tegelijk met de inductie of na de inductie van de ziekte. Mogelijke toedieningsroutes zijn intraveneus (i.v.), subcutaan (s.c), intramusculaire (i.m.), intranasaal (i.n.), oraal (p.o), of intracraniaal (i.c.). Een eenmalige i.c. toediening wordt alleen toegepast als een teststof lokaal moet worden toegediend omdat het in de huidige

samenstelling niet door de bloed-hersen barrière kan om het werkingsmechanisme van de stof te testen. Wanneer mogelijk zal toediening zonder sedatie worden uitgevoerd om het dier het ongerief van sedatie te besparen.

- Om in een vroeg stadium de veranderingen in de hersenen te kunnen meten, wordt gebruik gemaakt van een PET-scan voor het meten van de hoeveelheid dopamine of de dopaminereceptor dichtheid. Hiervoor wordt een radioactieve ligand ingespoten dat bindt aan dopamine of zijn receptor, waardoor deze zichtbaar gemaakt worden in de scan. Dit wordt onder algehele narcose uitgevoerd.

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

Iedere studie zal worden uitgevoerd met een geschat aantal van 7 marmosetapen per groep (7 controledieren en 7 dieren per experimentele groep). Dit is afhankelijk van de te testen therapie en de statistische poweranalyse. Uit resultaten van eerdere studies is gebleken dat het gebruik van 6-7 dieren per groep betrouwbare resultaten oplevert. Het voor een experiment benodigde aantal dieren zal worden bepaald door middel van power-analyse gebaseerd op een eenvoudige t-test tussen groepen. De klinische gedragsscore wordt geselecteerd als primaire uitlees parameter. Afhankelijk van het inductie protocol wordt de standaarddeviatie (SD) en de effect size (ES) van de klinische gedragsscore geschat, op basis van eerdere studies, waarmee het aantal dieren (N) berekend kan worden. De berekening gaat uit van een normale verdeling. Om het aantal aan te passen naar een student-t verdeling wordt de N verhoogd met een voor iedere groep (dus $N + 1/\text{groep}$).

Er wordt altijd een positieve controlegroep meegenomen waarbij ook de ziekte van Parkinson wordt geïnduceerd maar zonder verdere behandeling. De effecten worden vergeleken tussen behandelde en onbehandelde (controle) groep. Er worden zoveel mogelijk parameters binnen een dier gemeten en deze worden dan vergeleken met hun eigen basiswaarden. Indien de basiswaarden sterk verschillen tussen de groepen dan wordt de verandering t.o.v. hun eigen basiswaarde als meetresultaat genomen zodat de variatie beperkt blijft. In sommige studies is het nodig om ook een naïeve groep (negatieve controlegroep waarbij geen ziekte van Parkinson wordt geïnduceerd) mee te nemen om de neuronale effecten (zoals bijvoorbeeld neurogenese en eiwit analyse of transcriptomics) op de hersenen te kunnen vergelijken met de gezonde situatie (post-mortem pathologische waardes kunnen slechts eenmaal per dier worden onderzocht). Deze dieren volgen verder wel het hele proces zodat de invloed van de handelingen kunnen worden uitgesloten. Voor de standaard histologie van schade aan de substantia nigra en bij studies waarbij de toegepaste handelingen en trainingen geen invloed hebben op de activiteit van de hersenen, wordt gebruik gemaakt van hersenmateriaal uit de hersenbank.

Variabelen zijn de verwachte klinische symptomen en motorische beperking en het verwachte effect van de behandeling.

B. De dieren

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

Common marmoset (*Callithrix jacchus*), volwassen (> 2 jaar), M/V, uit de eigen fokkolonie, n=105.

Geschatte aantal studies is 6. Een studie zal worden uitgevoerd met een geschat aantal van 7 marmosets per groep en 2 tot 3 groepen per studie. Geschat wordt dat de helft van de studies uit 2 groepen zal bestaan. ((3 studies x 2 groepen + 3 studies x 3 groepen) x 7 dieren = (6+9) x 7 = 105 dieren).

Het gebruik van de marmoset voor het testen van een nieuwe therapie voor de ziekte van Parkinson is essentieel om een aantal redenen:

- Bij het MPTP marmoset-model wordt schade aan de substantia nigra geïnduceerd waardoor Parkinsonverschijnselen optreden. Het MPTP-model kan behalve in de primate ook in de kat en in de muis worden toegepast. De rat is ongevoelig voor MPTP, waardoor men in de rat gebruik maakt van het minder selectieve 6-OHDA-model;
- In het marmoset MPTP-model kan de progressie van het klinische beeld in tijd gevolgd worden. Hierdoor kan het effect van een behandeling over een lang termijn worden gemeten. Bij de kat verdwijnen spontaan de klinische symptomen en bij knaagdieren gebeurt dit zelfs al binnen twee dagen;
- Preklinische symptomen zoals verstoorde slaap bij de mens zijn ook waargenomen bij de marmosetaap

maar niet in knaagdieren. Dit is van belang voor het testen van behandelingen die ingrijpen op de vroege fase van het ziekteproces;

- De door L-DOPA optredende bijwerkingen van ongecontroleerde bewegingen, dyskinesia, treedt op een identieke wijze op in de marmosetaap. Bij knaagdieren is dit niet het geval;
- Het striatum, dat samen met de substantia nigra betrokken is bij de beweging-coördinatie, bestaat -net zoals bij de mens- uit meerdere structuren. In knaagdieren is dit slechts een enkelvoudige structuur zonder onderscheid tussen het putamen en de caudate nucleus.
- De marmoset is vanwege zijn hanteerbaarheid geschikt voor gedragsonderzoek om klinisch relevante gedragstaken te testen. Voorbeelden van test methodes die speciaal voor de marmosetaap zijn ontwikkeld: hand-oog coördinatie taak, locomotor activiteit, 24-uurs activiteit voor het circadiane ritme, opricht reflex, spring activiteit voor akinesia (niet kunnen starten van een beweging), cognitie met behulp van een 'touch screen' computertaak, slaap gedrag met behulp van telemetrische hersenactiviteit registratie. Veel van deze taken kunnen bij sociaal gehuisveste marmosetapen, vanuit de thuishoek, uitgevoerd worden.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

Dieren die zullen worden gebruikt in de experimenten, zijn mogelijk gebruikt in eerdere studies. Gezien de lange levensduur van deze species zal hergebruik plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1^e van de Wet op de Dierproeven. Van belang is wel dat er géén eerdere ingrepen hebben plaatsgevonden met een blijvend effect die het gedrag of de motorfunctie beïnvloedt of die een invloed hebben op het functioneren van de hersenen.

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

Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging

Door *in vitro* testen wordt een preselectie van effectieve geneesmiddelen gemaakt waardoor er zo min mogelijk dieren nodig zijn. Het nadeel van *in vitro* methoden is dat er geen interactie is met andere cellen en hersengebieden. Hiermee kan alleen het effect op een mechanisme in een cel getest worden en niet op de ziekte van Parkinson. Om de verstoorde interacties tussen hersengebieden te testen zijn we nog steeds afhankelijk van diermodellen.

De ziekte van Parkinson wordt veroorzaakt door schade in de hersenen leidend tot een verlies van motorfunctie. De verstoring van de interactie tussen verschillende hersengebieden resulteert in de gedragsveranderingen. Met de huidige stand van de proefdier vrije alternatieven is het niet mogelijk deze complexe interactie en het effect van een behandeling op het gedrag buiten het levende dier te bestuderen.

Het MPTP-inductie model voor de ziekte van Parkinson kan worden toegepast in verschillende diermodellen zoals de muis, de kat en de aap. Echter bij de kat verdwijnen spontaan de klinische symptomen en bij knaagdieren gebeurt dit zelfs al binnen twee dagen waardoor in deze diersoorten alleen post-mortem het effect kan worden aangetoond. Ook zijn vroege premotorische symptomen zoals verstoorde slaap alleen waargenomen bij de marmosetaap en niet in knaagdieren. Dit is van belang voor het testen van behandelingen die ingrijpen op het vroege ziekteproces. Doordat de klinisch relevante Parkinson-symptomen niet spontaan verdwijnen in het marmoset MPTP-model, is de marmoset geschikt om de progressie van het klinische beeld in tijd te volgen en belangrijk voor de voorspelling van de effecten van een behandeling in de kliniek.

Vermindering

Voordat een behandeling in apen wordt getest is het uitgebreid getest in het laboratorium en/of in andere diersoorten, bijvoorbeeld in muizen. Hieruit moet zijn gebleken dat de behandeling veilig is en dat er voldoende aanwijzingen zijn dat het werkzaam kan zijn. Uit dat onderzoek worden behandelingen geselecteerd voor verder onderzoek in apen om de vertaalslag naar de mens te vergroten. Het aantal benodigde dieren wordt per experiment bepaald aan de hand van statistische analyses middels power-analyse. Het minimaal aantal benodigde dieren zal worden gebruikt. Dit aantal zal afhangen van de eigenschappen van de behandeling en van het te gebruiken ziekte-inductie protocol voor de ziekte van Parkinson. Om het aantal dieren te verminderen wordt van tevoren het gedrag van elk dier gemeten waardoor er een preselectie kan plaatsvinden zodat er minder uitval verwacht wordt en daardoor minder dieren nodig zijn voor de studie. De gedragsveranderingen na ziekte inductie en na behandeling worden tevens met de eigen oorspronkelijke performance (nul waarden) vergeleken. Bovendien leidt het uitvoeren van meerdere gedragstesten in hetzelfde dier tot vermindering van het aantal proefdieren. Tevens zijn door de voorafgaande PK en dosisbepaling-studie minder testgroepen nodig voor het testen van de effectiviteit waardoor het aantal dieren kan worden verminderd.

Verfijning

Voor de marmosetaap zijn diverse niet-invasieve gedragstesten ontwikkeld waarbij motor gerelateerde functies gekwantificeerd kunnen worden. Deze taken kunnen op een standaard manier worden uitgevoerd zonder extra variabele zoals de beïnvloeding van een observator. Een deel van deze testen kunnen plaatsvinden in de thuishooi. Een voorbeeld is de 24-uurs activiteit in de thuishooi middels een kleine draagbare actimeter die aan de halsketting voor identificatie wordt bevestigd. Alle testen worden uitgevoerd met behulp van spontane motivatie gebruikmakend van de voorkeur van de aap, zoals de klimtoren, of met gebruikmaking van voedsel beloning bij de hand-oog coördinatie test. De apen worden eerst 'gehabituëerd' aan de opstelling en daarna stapsgewijs voor de taak getraind. Doordat er diverse gedragstesten op hetzelfde dier worden uitgevoerd, is een nauwkeurigere meting van het effect van het kandidaat medicijn mogelijk. Dit leidt tot verfijning en draagt tevens bij tot een nauwkeuriger bepaling van humane eindpunten. In geval van metingen van de hersenactiviteit (EEG), voor bijvoorbeeld slaap, wordt gebruik gemaakt van een telemetrisch systeem waardoor de aap zonder fixatie vrij kan bewegen in de thuishooi. De procedure voor het aanbrengen van EEG-elektrodes is in eerdere studies verfijnd, waardoor de uitval van dieren door technische problemen sterk verminderd is (Bakker et al., (2014) Recovery time after intra-abdominal transmitter placement for telemetric (neuro) physiological measurement in freely moving common marmosets (*Callitrix jacchus*), *Animal Biotelemetry* 20142:10).

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

Training: De dieren worden voor aanvang van de studie getraind om in de thuishooi op de weegschaal te gaan staan, waardoor de stress van uitvallen wordt voorkomen. De dieren worden getraind om zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken aan invasieve biotechnische handelingen zoals het geven van een verdoving of kleine bloedafnames. Verder worden de dieren eerst gehabituëerd aan de gedragsopstellingen zodat ze op een vertrouwde wijze de gedragstaken kunnen uitvoeren en daar waar nodig getraind (bijvoorbeeld bij een leertaak zoals de hand-oog coördinatie taak of cognitietak).

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

Er zijn geen nadelige milieueffecten te verwachten.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

Niet van toepassing.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

De typische ziekte van Parkinson symptomen bij de mens Induceren geen pijn. Wel ondervinden patiënten last van de verminderde controle over hun motorfuncties. Wanneer symptomen van pijn worden geobserveerd zal orale of parenterale pijnstilling worden toegediend na overleg met de veterinaire. Het aanbrengen van de elektroden voor het meten van het EEG of het maken van een gaatje in de schedel voor Intracraniale toediening vindt plaats onder algehele narcose gevolgd door pijnstilling om eventuele pijn ervaringen tegen te gaan.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. ongerief door toediening van injectie
2. ongerief door sedatie en ontwaken uit sedatie
3. ongerief door klinische Parkinson-symptomen
4. single huisvesting indien noodzakelijk
5. ongerief door bloedafname

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. De subcutane inspuiting kan irritatie geven.
2. Voor sedatie moet het dier nuchter blijven. Ook het ontwaken uit anesthesie kan vervelend zijn alsmede de temperatuurverlaging tijdens sedatie.
3. Parkinsonisme leidt tot symptomen als apathie, mindere bewegelijkheid, tremoren en stijfheid. Het verlies van motor functies kan als stressvol worden ervaren. In ons MPTP-model is het weleens voorgekomen (bij 4% van de dieren) dat de dieren enkele dagen een beweging niet kunnen stoppen waardoor ze vastlopen in een hoek van de kooi. Hierdoor kan de huid geïrriteerd raken aan het draadwerk. Indien dat optreedt worden de hoeken van de kooi voorzien van zachte stootbanden zoals opgerolde handdoeken waardoor ze zich niet aan het metaal kunnen verwonden. Het is onze ervaring dat deze directe effecten van het MPTP na enkele dagen verdwenen zijn.
4. Tijdens de studie worden de dieren sociaal gehuisvest. Het kan voorkomen dat een kooigenoot vroegtijdig overlijdt waardoor de ander alleen komt te zitten. marmosets zijn sociale dieren en alleen gehuisvest zitten kan stress geven.
5. Het ultvangen en hanteren voor een zogenaamde vingerprik voor een kleine hoeveelheid bloed in het ongesedeerde dier kan stress veroorzaken. Grotere hoeveelheden bloed worden onder sedatie afgenomen (zie punt 2 hierboven).

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

1. Alle dieren worden intensief getraind om te wennen aan de experimentele procedures. Ongerief van inspuitingsplaatsen zal naar verwachting licht zijn. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts medicatie worden toegepast.
2. Dieren liggen op een warmtemat ter voorkoming van temperatuurverlaging
3. Wanneer motorische effecten worden waargenomen, zoals het niet stoppen van een beweging waardoor ze vastlopen, zal de kooi aangepast worden door het aanbrengen van doeken in de hoeken van de kooi. Dit om te voorkomen dat ze zich aan het gaas van de kooi verwonden. We werken met een cumulatieve discomfort schaal van de klinische symptomen. Dieren worden geëuthanaseerd wanneer het humane eindpunt is bereikt.
4. Als een dier door omstandigheden (zoals het bereiken van humaan eindpunt van een kooigenoot) gedurende de studie individueel komt te zitten, wordt er geen nieuwe partner geïntroduceerd omdat dit meer stress oplevert dan individuele huisvesting voor de resterende tijd van een studie.
5. De dieren worden intensief getraind om te wennen aan de experimentele procedures. Ongerief van de bloedafname plek zal naar verwachting licht zijn. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts medicatie worden toegepast.

J. Humane eindpunten

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

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Indien een dier ernstig gewichtsverlies (>15% van het lichaamsgewicht), of ziekteverschijnselen (zoals braken of diarree) gaat vertonen zal in overleg met de veterinaire worden besloten of behandeling nodig is of dat het dier uit de studie gehaald wordt. In geval van ernstige ziekteverschijnselen zal een dier direct uit studie worden genomen en geëuthanaseerd (gevolgd door uitgebreide sectie) om verder ongerief te voorkomen. Dit vindt plaats wanneer het eindpunt volgens de klinische score* is bereikt waarbij de maximale gemiddelde cumulatieve score >3,5 is voor tenminste twee dagen, of wanneer het algemene welzijn door andere omstandigheden ernstig wordt aangetast. Anders worden de dieren geëuthanaseerd op het eindpunt van de studie. De humane eindpunten voorkomen dat matig ongerief ernstig wordt en daarom is er geen ernstig ongerief in deze dierproef.

* De klinische score is zowel belangrijk als uitkomstparameter tijdens de studie als voor het bepalen van het humane eindpunt. Klinische score omvat o.a. verminderd vachtonderhoud (poetsgedrag), apathie

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: AVD5020020172687
2. Titel van het project: Evaluatie van nieuwe therapieën voor de ziekte van Parkinson
3. Titel van de NTS: Evaluatie van nieuwe therapieën voor de ziekte van Parkinson
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
 - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: 10.2.g
 - telefoonnummer contactpersoon: 10.2.e
 - e-mailadres contactpersoon:
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC: 20-07-2017
 - aanvraag compleet: 20-07-2017
 - in vergadering besproken: 02-08-2017 en 24-08-2017 en 06-09-2017
 - anderszins behandeld
 - termijnonderbreking(en) van 04-08-2017 tot 17-08-2017, 28-08-2017 tot 01-09-2017
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermin met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag: 17-08-2017, 01-09-2017 en 07-09-2017
 - advies aan CCD: 11-09-2017
7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD.
De aanvrager heeft het projectvoorstel afgestemd met de IvD en het met instemming van de IvD ingediend bij de DEC.

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

8. Eventueel horen van aanvrager n.v.t.
 - Datum: 06-09-2017
 - Plaats: Rijswijk
 - Aantal aanwezige DEC-leden: vijf
 - Aanwezige (namens) aanvrager: de verantwoordelijke onderzoeker
 - Gestelde vraag / vragen: Nadere uitleg werd gevraagd over de in bijlage 1 Sectie A beschreven farmacokinetiek en dosis bepaling studies. De samenhang tussen deze studies was niet geheel duidelijk.
 - Verstrekt(e) antwoord(en): De samenhang tussen deze onderdelen werd uitgelegd.
 - Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag: In bijlage 1 is sectie A overeenkomstig aangepast.

9. Correspondentie met de aanvrager
 - Datum: 04-08-2017, 28-08-2017, 06-09-2016
 - Gestelde vraag/vragen: Enige tekstuele aanpassingen, aanvullende informatie betreffende het marmoset MPTP model, de positionering van dit model ten opzichte van alternatieve beschikbare diermodellen en binnen het ontwikkelings traject van nieuwe therapieën tegen de ziekte van Parkinson. Tevens werd gevraagd naar de mogelijkheid om physiologically based pharmacokinetic modelling toe te passen en om aanvullende informatie over biotechnische handelingen, milieueffecten, verfijning en humane eindpunten.
 - Datum antwoord: 17-08-2017, 01-09-2017, 07-09-2017
 - Verstrekt(e) antwoord(en): Het project is aangepast in het format projectvoorstel dierproeven (nadere beschrijving van het MPTP model, vergelijk met andere diermodellen, inbedding van het onderzoek binnen het ontwikkelingstraject voor nieuwe geneesmiddelen), in de bijlages is extra informatie opgenomen betreffende de biotechnische handelingen, milieueffecten, verfijning en humane eindpunten. Physiologically based pharmacokinetic modelling kan niet worden toegepast aangezien het bij de in bijlage 1 beschreven experimenten niet zozeer gaat om kinetiek studies, maar om het vaststellen van de juiste dosis en het tijdstip voor het maximale effect.
 - De antwoorden hebben wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag

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

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig.
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. Is de DEC competent om hierover te adviseren? De commissie heeft voldoende expertise, inbegrepen onderzoek naar neurologische aandoeningen, statistische analyse, onderzoek met niet-humane primaten, en toepassing van alternatieven op deze gebieden. Ook is er voldoende expertise op gebied van ontwerp van dierproeven, proefdiergeneeskundige praktijk, het houden en verzorgen van dieren, ethiek en proefdieren en hun bescherming. De DEC heeft ruime ervaring met het beoordelen van de modellen die gebruikt worden voor screenen en evalueren van nieuwe therapieën tegen de ziekte van Parkinson in het marmoset MPTP model.

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

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft. Het voorgestelde onderzoek bestaat uit twee onderdelen, te weten 1) bepaling van de dosis waarin de potentieel nieuwe therapieën getest moeten gaan worden en het effect op relevante biomerkers en 2) *in vivo* evaluatie van de effectiviteit van potentieel nieuwe therapieën tegen de ziekte van Parkinson of tegen door L-DOPA veroorzaakte bijwerkingen. De subdoelen sluiten logisch aan bij het hoofddoel en vormen een samenhangend geheel en zijn noodzakelijk om het hoofddoel te bereiken. De te testen potentiële therapieën zijn veelal ontwikkeld op basis van wetenschappelijke inzichten in mogelijke werkingsmechanismen en specifieke aangrijpingspunten.
2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Wet Natuurbescherming). Er is, zover de DEC kan overzien, geen tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan.
3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel. De aangegeven doelcategorie, te weten 'translationeel of toegepast onderzoek', sluit aan bij het projectvoorstel. In deze projectaanvraag worden nieuwe potentiële therapieën tegen de ziekte van Parkinson *in vivo* onderzocht op hun therapeutisch effect tegen de verschijnselen van de ziekte van Parkinson en tegen de bijwerkingen van L-DOPA, tot nu toe het meest effectieve middel tegen de verschijnselen van de ziekte van Parkinson.

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld. Het directe doel van het project is het screenen van nieuwe potentiële therapieën op activiteit tegen de ziekte van Parkinson en tegen de bijwerkingen van L-DOPA in een niet-humane primaten model waarin de symptomen van Parkinson zijn geïnduceerd door toediening van de neurotoxische stof MPTP. Het uiteindelijke doel is het bijdragen aan het beschikbaar komen van betere en bij voorkeur causale geneesmiddelen tegen de ziekte van Parkinson. Nieuwe geneesmiddelen tegen de ziekte van Parkinson zijn nodig omdat er slechts een beperkt aantal middelen beschikbaar zijn, welke niet afdoende helpen bij het stoppen van de ziekte. Het meest gebruikte medicijn, L-DOPA, veroorzaakt dyskinesie, onwillekeurige, ongecontroleerde, repeterende en soms stereotype bewegingen. Nieuwe middelen zullen worden getest op effectiviteit (ofwel remming van symptomen van de ziekte van Parkinson, ofwel remming van de bijwerkingen van L-DOPA) en reductie in pathologie (post-mortem). Er is binnen dit onderzoek een reële relatie tussen het directe doel en het uiteindelijke doel.
5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld*). De belangrijkste belanghebbenden in dit translationele project dat gericht is op de ontwikkeling van

een effectieve therapie tegen de ziekte van Parkinson zijn de te behandelen personen, de proefdieren en het onderzoeksveld.

Voor de te behandelen Parkinson patiënten is het beschikbaar komen van een effectief middel tegen de ziekte van Parkinson van groot belang, aangezien het meest gebruikte medicijn tegen deze ziekte niet zonder ernstige bijwerkingen langdurig gebruikt kan worden. Dit heeft een ernstig nadelig effect op het welzijn en functioneren van de patiënt. Alleen met het beschikbaar komen van nieuwe therapieën kan de ziekte van Parkinson beter behandeld worden.

Het belang voor de samenleving is dat Parkinson patiënten een betere behandeling kunnen krijgen. Hierdoor wordt de kwaliteit van leven verhoogd en het zal resulteren in een sterke verbetering van de gezondheid van grote groepen mensen, een sterke beperking van de uitgaven voor verpleging en medicatie en minder verlies in economische productiviteit doordat Parkinson patiënten langer deel kunnen blijven nemen aan het arbeidsproces.

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

Het onderzoeksveld krijgt nieuwe informatie die wordt gedeeld d.m.v. publicatie(s). Dit onderzoek kan leiden tot ontwikkeling van nieuwe klassen van anti-Parkinson geneesmiddelen en tot meer inzicht in de werkingsmechanismen van deze geneesmiddelen, alswel in het verloop van de ziekte.

6. Is er aanleiding voor de DEC om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken? Er zijn geen substantiële milieueffecten te verwachten binnen de kaders of ten gevolge van dit project.
Proefopzet en haalbaarheid
7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe. De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn boven iedere twijfel verheven gezien de wetenschappelijke output, de verworven interne- en externe financiering alsmede de aandacht voor de drie V's.
8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe. De DEC is er van overtuigd dat het projectvoorstel aansluit bij recente wetenschappelijke inzichten en geen hiaten bevat die de bruikbaarheid van de resultaten in de weg zullen staan. De voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters zijn logisch en helder gekozen en sluiten aan bij de aangegeven doelstellingen. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen naar de mening van de DEC leiden tot het behalen van de doelstelling in het kader van het project. Wel zou naar de mening van de DEC additionele informatie verkregen kunnen worden door te zoeken naar vroege biomarkers die de ziekte van Parkinson kunnen voorspellen.

Welzijn dieren

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

- Bedreigde diersoort(en) (10e, lid 4)
- Niet-menselijke primaten (10e)
- Dieren in/uit het wild (10f)
- Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I richtlijn)
- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e, lid 2)
- Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV richtlijn (13c, lid 3)

De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op bewezen gevoeligheid voor inductie van sterk op de ziekte van Parkinson gelijkende verschijnselen bij marmoset apen en het feit dat het model chronisch is, waardoor het effect van potentiële therapieën op specifieke ziekte symptomen en het verloop van het ziekte bestudeerd kan worden, dit in tegenstelling tot bijvoorbeeld knaagdiermodellen. De dosering van de kandidaat geneesmiddelen wordt bepaald aan de hand van beperkte PK/PD studies in gezonde dieren. De eventuele nadelige effecten van de kandidaat geneesmiddelen zullen ook deels naar voren kunnen komen.

Voor alle studies kunnen in principe dieren gebruikt worden die al eerder in een andere studie zijn gebruikt. Hergebruik zal plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in de Wet op de Dierproeven.

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. De huisvesting en verzorging voldoet ten volle aan de vereisten in bijlage III.
11. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe. Het ongerief is correct als matig ingeschat op basis van ervaring met PK studies en MPTP-geïnduceerde Parkinson studies in niet-humane primaten en wordt veroorzaakt door de experimentele technieken, de toegediende geneesmiddelen en de klinische symptomen ten gevolge van de ziekte (indien van toepassing). In combinatie zijn de gevolgen van deze handelingen terecht als matig ongerief ingeschat. Monitoren van klinische symptomen en gedragstesten zullen worden gebruikt om ongerief te scoren, dat niet boven een vastgesteld maximum zal uitkomen. De dieren zijn speciaal voor dit doel gefokt, en zullen als sociaal compatibel duo worden gehuisvest.
12. Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake is van aantasting van integriteit. De integriteit van de dieren die voor PK/PD studie worden gebruikt wordt aangetast door de toediening van geneesmiddelen en frequente bloedafnames. Deze aantasting van de integriteit is van voorbijgaande aard en de dieren zullen in de meeste gevallen geheel terug keren naar hun oorspronkelijke toestand, qua gezondheid en welzijn. In sommige gevallen zullen de dieren aan het eind van de PK/PD studie gedood worden ten einde onderzoek te kunnen doen naar de biologische respons van de teststof. De integriteit van de dieren waarbij de effectiviteit van geneesmiddelen wordt getest wordt aangetast door de dieren te behandelen met MPTP waardoor symptomen van de ziekte van Parkinson zullen optreden alsmede door de toediening van L-DOPA en geneesmiddelen ofwel tegen de ziekte van Parkinson of tegen de bijwerkingen van L-DOPA. Door de symptomen van de ziekte van Parkinson zullen de dieren motorische en cognitieve beperkingen krijgen en niet volledig meer kunnen functioneren. Indien de gekozen behandeling effectief blijkt te zijn zal bij dit deel van de dieren de symptomen minder ernstig verlopen.

13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw beoordeling toe. Naar de mening van de DEC zijn de humane eindpunten zorgvuldig beschreven en is de kans dat dieren een humaan eindpunt zullen bereiken terecht als laag ingeschat.
14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. In dit project worden potentiële nieuwe therapieën tegen de ziekte van Parkinson geëvalueerd op hun werkzaamheid in marmoset apen. Bij deze dieren kan door behandeling met MPTP een ziekte worden geïnduceerd die zeer veel overeenkomsten vertoont met de ziekte van Parkinson bij de mens, en ook de behandeling met L-DOPA geeft dezelfde bijwerkingen als bij mensen. Modellen voor de ziekte van Parkinson in andere dieren (muis, kat en rat) zijn wel beschreven maar komen minder overeen met de humane ziekte, zijn niet chronisch en ook de structuur van de hersenen en werking van geneesmiddelen is anders in andere diersoorten. Door de experimenten in niet-humane primaten kunnen inzichten in effectiviteit en mogelijke bijwerkingen naar voren komen die bij onderzoek met andere diersoorten gemist zouden zijn. Deze stap overslaan en direct onderzoek met menselijke vrijwilligers verrichten is in dit stadium van de ontwikkeling van de potentiële therapieën dan ook niet verantwoord.
15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Licht uw beoordeling toe. Het aantal dieren dat nodig is voor de PK studies wordt tot een minimum beperkt. Het aantal benodigde dieren voor de *in vivo* evaluatie van de effectiviteit van potentiële geneesmiddelen wordt bepaald met behulp van statische powerberekeningen op basis van gegevens uit voorgaande experimenten. Bij het onderzoeken van meerdere kandidaten geneesmiddelen binnen een proefopzet zal het aantal controlegroepen beperkt worden.
16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Licht uw beoordeling toe. De uitvoering is verfijnd door gebruik te maken van sociaal gehuisveste dieren die goed aan mensen gewend zijn, de dieren zijn bovendien getraind om zo veel mogelijk mee te werken aan bepaalde diertechnische handelingen, waardoor ze minder stress ervaren. Sedatie en pijnbestrijding zullen worden toegepast wanneer geïndiceerd. Bij onverwacht grotere welzijnsaantasting dan voorzien zal een humaan eindpunt worden toegepast, dat duidelijk gedefinieerd is. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.
17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Licht uw beoordeling toe. N.v.t.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd. In onderhavige projectaanvraag worden dieren van beide geslachten gebruikt.
19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood

worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Zo niet, beoordeel dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Indien van toepassing, geef ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd. De meeste dieren van de PK/PD studie zullen in leven blijven na afloop van het project, slechts in uitzonderingsgevallen (als men het effect van een middel op het brein of andere organen wil onderzoeken) zullen dieren worden gedood. De dieren die gebruikt worden om de effectiviteit van anti-Parkinson middelen te testen zullen worden gedood aan het einde van het traject omdat het effect van de te testen middelen op de pathologie van het brein moet worden beoordeeld.

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

NTS

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

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag. Rechtvaardigt het evalueren van nieuwe potentiële therapieën tegen de ziekte van Parkinson het ongerief dat de dieren wordt aangedaan, de aantasting van de integriteit en het doden van de dieren? Is het gebruik van niet-humane primaten in dit geval gerechtvaardigd of kan de gewenste informatie ook verkregen worden door het inzetten van andersoortige proefdieren of andere onderzoeksmodellen.
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 vereenvoudigen, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende.

De waarde voor de te behandelen personen met de ziekte van Parkinson is gelegen in het mogelijk beschikbaar komen van effectieve therapieën die verergering van de ziekte kunnen voorkomen of de symptomen kunnen verminderen. Dit betekent een sterke verbetering van de kwaliteit van leven van de betrokken personen en verlichting voor de sociale omgeving. De voordelen voor de maatschappij zijn zowel economisch (jongere mensen met de ziekte van Parkinson kunnen langer aan het arbeidsproces blijven deelnemen, Parkinson patiënten in het algemeen zullen langer zelfstandig kunnen blijven, daardoor minder zorgkosten) als bevorderlijk voor het algemene welzijn van de samenleving (minder zieken, minder zorgkosten).

Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en de autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te laten ondergaan. Ze zullen ziek worden door de inductie van Parkinson en de door L-DOPA geïnduceerde symptomen en zullen door verminderd motorisch en cognitief functioneren hinder ondervinden. Ze kunnen enige pijn ondervinden door bloedafnames en injecties. De dieren ondervinden hiervan matig ongerief.

De waarden voor het onderzoeksveld zijn toenemend wetenschappelijk inzicht in de ontwikkeling

van de ziekte van Parkinson en werkingswijze van mogelijke behandelmethodes. Tevens wordt inzicht verkregen in de mogelijkheden om L-DOPA geïnduceerde bijwerking tegen te gaan.

Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit werk leiden tot het verkrijgen van nieuwe therapieën waarmee mensen met de ziekte van Parkinson behandeld kunnen worden. De nieuwe medicijnen kunnen ofwel een alternatief vormen voor L-DOPA, waar ernstige bijwerkingen van bekend zijn, ofwel ze kunnen beschermen tegen de bijwerkingen van dit middel. Het verwachte ongerief voor de dieren valt daardoor moreel te verantwoorden.

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

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

Het onderzoek is van groot belang voor mensen, omdat het ontwikkelen van een effectief medicijn tegen de verschijnselen van de ziekte van Parkinson voor veel mensen een aanzienlijke verbetering van de kwaliteit van leven geeft.

De kennis en kunde van de aanvragers wordt onderbouwd door het feit dat de gebruikte onderzoekmodellen al eerder gebruikt zijn door de onderzoeker. De onderzoeker en het instituut bezitten de vereiste expertise en voorzieningen voor dergelijk onderzoek met niet-humane primaten. De gekozen strategie voor het *in vivo* testen van de effectiviteit van potentiële therapieën, alsmede het management van dierenwelzijn, is mede gebaseerd op ervaringen uit deze eerdere studies. De studie zal worden uitgevoerd in common marmosets (*Callithrix jacchus*). De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op bewezen gevoeligheid voor inductie van Parkinson met MPTP en geschiktheid voor gedragstesten. De dieren zijn specifiek gefokt voor gebruik in onderzoek en worden sociaal gehuisvest.

De haalbaarheid van de doelstellingen van dit project wordt als hoog ingeschat. In dit diemodel kunnen ook eventuele nadelige effecten aan het licht komen. Het belang van het onderzoek rechtvaardigt het gebruik van deze diersoort, de dieren zijn afkomstig uit eigen fok, de 3V-principes worden gehonoreerd door het toepassen van een klinische scoringstabel en training van dieren voor het meewerken aan biotechnische handelingen (positieve reinforcement). Het ongerief is maximaal matig. Humane eindpunten worden toegepast en zijn zorgvuldig beschreven.

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

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning te verlenen.
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
 - ✓ Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.

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



Datum 26-09-2017
Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven
AVD20172687

Advies aan CCD

B

Instelling: Biomedical Primate Research Centre
Onderzoeker: 10.2.e
Project: Evaluatie van nieuwe therapieën voor de ziekte van Parkinson
Aanvraagnummer: AVD20172687
Betreft: Nieuwe aanvraag
Categoriën: Translationeel of toegepast onderzoek

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

Proces	Er is geen correspondentie met aanvrager of DEC geweest.
--------	--

Naam proef	Diersoort	Stam	Aantal dieren	Herkomst
3.4.4.1 Bepaling van farmacakinetiek en dosis van nieuwe therapieën op relevante gedrags blomerkers in gezonde marmosets.				
	Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus)	marmosets	32	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten
3.4.4.2 Therapie evaluatie in het marnaset MPTP-model.				
	Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus)	marmosets	105	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten

De dieren worden in duo's gehuisvest, wanneer een kooigenoot in het kader van het experiment wordt geethanaseerd, dan kan het gebeuren dat het andere dier individueel gehuisvest is gedurende de resterende looptijd van de dierproef. Dit omdat het introduceren van een nieuwe kooigenoot meer stress/ ongerief zal veroorzaken.

Gebruik van mannelijke en vrouwelijke dieren

- 3.4.4.1 Bepaling van farmacakinetiek en dosis van nieuwe therapieën op relevante gedrags blomerkers in gezonde marmosets. / Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus): Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt.
- 3.4.4.2 Therapie evaluatie in het marnaset MPTP-model. / Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus): Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt.

Locatie uitvoering experimenten	- Alle proeven vinden plaats in een instelling van een vergunninghouder. - Er zijn geen problemen bekend met de vergunninghouder.
Maatschappij	Er wordt verwacht dat het onderwerp in die mate politiek of maatschappelijk gevoelig is, dat eventuele extra communicatie uitingen nodig zijn. Het betreft een aanvraag met Niet Human Primaten. Het gebruik van deze diersoort ligt maatschappelijk gevoelig.

2 DEC advies

DEC-advies	Enige tekstuele aanpassingen, aanvullende informatie betreffende het marmoset MPTP model, de positionering van dit model ten opzichte van alternatieve beschikbare diermodellen en binnen het ontwikkelings traject van nieuwe therapieën tegen de ziekte van Parkinson. Tevens werd gevraagd naar de mogelijkheid om physiologically based pharmacokinetic modelvorming toe te passen en om aanvullende informatie over biotechnische handelingen, milieueffecten, verfijning en humane eindpunten.
-------------------	--

Ethische afweging van de DEC:

citaat: Rechtvaardigt het evalueren van nieuwe potentiële therapieën tegen de ziekte van Parkinson het ongerief dat de dieren wordt aangedaan, de aantasting van de integriteit en het doden van de dieren? Is het gebruik van niet-humane primaten in dit geval gerechtvaardigd of kan de gewenste informatie ook verkregen worden door het inzetten van andersoortige proefdieren of andere onderzoeksmodellen.

De waarde voor de te behandelen personen met de ziekte van Parkinson is gelegen in het mogelijk beschikbaar komen van effectieve therapieën die verergering van de ziekte kunnen voorkomen of de symptomen kunnen verminderen. Dit betekent een sterke verbetering van de kwaliteit van leven van de betrokken personen en verlichting voor de sociale omgeving. De voordelen voor de maatschappij zijn zowel economisch (jongere mensen met de ziekte van Parkinson kunnen langer aan het arbeidsproces blijven deelnemen Parkinson patiënten in het algemeen zullen langer zelfstandig kunnen blijven, daardoor minder zorgkosten) als bevorderlijk voor het algemene welzijn van de samenleving (minder zieken, minder zorgkosten).

Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en de autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te laten ondergaan. Ze zullen ziek worden door de inductie van Parkinson en de door L-DOPA geïnduceerde symptomen en zullen door verminderd motorisch en cognitief functioneren hinder ondervinden. Ze kunnen enige pijn ondervinden door bloedafnames en injecties. De dieren ondervinden hiervan matig ongerief.

De waarden voor het onderzoeksveld zijn toenemend wetenschappelijk inzicht in de ontwikkeling van de ziekte van Parkinson en werkingswijze van mogelijke behandelmethodes. Tevens wordt inzicht verkregen in de mogelijkheden om L-DOPA geïnduceerde bijwerking tegen te gaan. Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit werk leiden tot het verkrijgen van nieuwe therapieën waarmee mensen met de ziekte van Parkinson behandeld kunnen worden. De nieuwe medicijnen kunnen ofwel een alternatief vormen voor L-DOPA, waar ernstige bijwerkingen van bekend zijn, ofwel ze kunnen beschermen tegen de bijwerkingen van dit middel. Het verwachte ongerief voor de dieren valt daardoor moreel te verantwoorden.

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

Het onderzoek is van groot belang voor mensen, omdat het ontwikkelen van een effectief medicijn tegen de verschijnselen van de ziekte van Parkinson voor veel mensen een aanzienlijke verbetering van de kwaliteit van leven geeft.

De kennis en kunde van de aanvragers wordt onderbouwd door het feit dat de gebruikte onderzoekmodellen al eerder gebruikt zijn door de onderzoeker. De onderzoeker en het instituut bezitten de vereiste expertise en voorzieningen voor dergelijk onderzoek met niet-humane primaten. De gekozen strategie voor het in vivo testen van de effectiviteit van potentiële therapieën, alsmede het management van dierenwelzijn, is mede gebaseerd op ervaringen uit deze eerdere studies. De studie zal worden uitgevoerd in common marmosets (*Callithrix jacchus*). De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op bewezen gevoeligheid voor inductie van Parkinson met MPTP en geschiktheid voor gedragstesten. De dieren zijn specifiek gefokt voor gebruik in onderzoek en worden sociaal gehuisvest.

De haalbaarheid van de doelstellingen van dit project wordt als hoog ingeschat. In dit diersysteem kunnen ook eventuele nadelige effecten aan het licht komen. Het belang van het onderzoek rechtvaardigt het gebruik van deze diersoort, de dieren zijn afkomstig uit eigen fok, de 3V-principes worden gehonoreerd door het toepassen van een klinische scoringstabel en training van dieren voor het meewerken aan biotechnische handelingen (positieve reinforcement). Het ongerief is maximaal matig. Humane eindpunten worden toegepast en zijn zorgvuldig beschreven. Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van deze proefdieren rechtvaardigt.

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

Het DEC advies is Positief

Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3 Kwaliteit DEC advies

Kwaliteit DEC-advies	Het DEC-advies is volledig.
	Er zijn geen DEC leden uitgesloten van de behandeling van de aanvraag vanwege onafhankelijkheid of onpartijdigheid.
Het advies van de DEC is volledig. Het is navolgbaar hoe de DEC tot een afweging is gekomen. De correspondentie met de aanvrager is niet tot in detail beschreven, maar wel herleidbaar doorgevoerd in de documenten.	

4 Inhoudelijke beoordeling

Belangen- verstrengeling	Geen van de medewerkers van het Secretariaat heeft een arbeidsrelatie gehad met de aanvrager die minder dan 5 jaar geleden is beëindigd of heeft andere belangen die mogelijk zouden kunnen leiden tot oneigenlijke beïnvloeding.
Doelstelling Doelstelling	citaat: In dit project wordt de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes tegen de ziekte van Parkinson onderzocht in een diermodel voor deze ziekte, namelijk het MPTP-model in de marmosetaap. citaat: Het concrete doel van dit project is selectie van nieuwe therapieën voor de ziekte van Parkinson voor verdere klinische studies. Het is de verwachting dat binnen de looptijd van dit project 6 nieuwe methoden onderzocht gaan worden. Het uiteindelijke doel van het onderzoek is dat therapieën beschikbaar komen waarmee de symptomen van de ziekte van Parkinson voor de patiënt worden verlicht en de verdere achteruitgang wordt verminderd of voorkomen.

Wetenschappelijk en maatschappelijk belang	<p>citaat: In Nederland leven ongeveer 32.000 mensen met de ziekte van Parkinson, dat is op dit moment 1 op de 500 mensen. Aangezien het een ouderdoms ziekte is, wordt er op korte termijn een verdubbeling verwacht vanwege de vergrijzende samenleving. De ziekte treft vooral ouderen vanaf 55 jaar, die nog lang een bijdrage aan de maatschappij hadden kunnen leveren. Voor de Parkinsonpatiënt betekent dit een verminderde kwaliteit van leven met ernstige incapacitatie van beweging en complicaties zoals ernstige depressie, slaapverstoring, cognitieve achteruitgang, constipatie en incontinentie. Aangezien deze patiënten aangewezen zijn op de hulp van anderen beïnvloedt deze ziekte ook hun directe omgeving. Naarmate de ziekte vordert is zelfstandig wonen niet meer mogelijk maar is intensieve begeleiding noodzakelijk.</p> <p>De huidige therapieën die ontwikkeld zijn tegen de ziekte van Parkinson onderdrukken slechts de symptomen. Aangezien de ziekte progressief is wordt de ernst van de symptomen alleen maar erger waardoor steeds meer medicatie nodig is voor hetzelfde effect. Hierdoor ontwikkelt zich tolerantie voor het medicijn en moet de patiënt tussendoor regelmatig overstappen op andere medicijnen. Tevens hebben de huidige therapieën veel bijwerkingen zoals hallucinaties en onwillekeurige ongecontroleerde bewegingen, die we dyskinesia noemen. Omdat de ziekte een ernstig verslechterend verloop heeft en de incidentie door de groeiende vergrijzing toeneemt, is het belangrijk dat de ontwikkeling van nieuwe therapieën tegen de ziekte van Parkinson blijft doorgaan. Het marmoset MPTP-model draagt daaraan bij door enerzijds het testen van de effectiviteit van nieuwe behandelmethoden (maatschappelijk belang) maar anderzijds ook doordat onderzoek in het model informatie oplevert over het mechanisme wat ten grondslag ligt aan de ziekte (wetenschappelijk belang) en daarmee nieuwe aanknopingspunten voor behandeling gevonden kunnen worden. Bovendien kan met het onderzoek ook ongewenste nevenwerkingen van het medicijn worden ontdekt, zoals in eerdere studies met het marmoset MPTP model is gevonden. Deze informatie is van belang voor het verdere traject van de kandidaatsstof voor klinisch gebruik.</p>
Onderbouwing wetenschappelijk en maatschappelijk belang	voldoende uitgewerkt.
Wetenschappelijke kwaliteit Kwaliteit aanvrager/ onderzoeksgroep en onderzoek	Uit het advies van de DEC volgt dat de kennis en kunde van de aanvrager voldoende is om de doelstellingen van dit project te behalen. Het Secretariaat heeft geen reden hieraan te twijfelen.

3V's

Vervanging

3.4.4.1 Bepaling van farmacakinetiek en dosis van nieuwe therapieën op relevante gedrags blomerkers in gezonde marmosets.: citaat: In veel gevallen wordt een teststof door een externe partij aangeleverd om te testen in het MPTP-model. Een therapie kan meteen in het marnnaset MPTP-model getest worden als er uit eerdere in vitro of In vivo studies met knaagdieren een indicatie is voor een te testen concentratie en toedieningsschema. De hieruit vastgestelde gegevens kunnen worden gebruikt voor een indicatie voor de dosis en het tijdstip voor het optimale effect van de stof in de marmosetaap. Echter wanneer dit niet voldoende informatie oplevert voor een therapie evaluatie in het MPTP-model, dient er voorafgaand aan een therapie evaluatie (Bijlage 2) eerst een farmacakinetiek en/of dosisbepaling op relevante gedrags blomerkers in de gezonde marmosetaap gedaan te worden. Op dit moment zijn er geen in vitro modellen (zoals cellijnen, organoïds) beschikbaar voor het marmoset model om de opname, blo-beschikbaarheid etc. van de nieuwe middelen te onderzoeken.

3.4.4.2 Therapie evaluatie in het marnaset MPTP-model.: citaat:

Door in vitro testen wordt een preselectie van effectieve geneesmiddelen gemaakt waardoor er zo min mogelijk dieren nodig zijn. Het nadeel van in vitro methoden is dat er geen interactie is met andere cellen en hersengebieden. Hiermee kan alleen het effect op een mechanisme in een cel getest worden en niet op de ziekte van Parkinson. Om de verstoorde interacties tussen hersengebieden te testen zijn we nog steeds afhankelijk van diermodellen.

De ziekte van Parkinson wordt veroorzaakt door schade in de hersenen leidend tot een verlies van motorfunctie. De verstoring van de interactie tussen verschillende hersengebieden resulteert in de gedragsveranderingen. Met de huidige stand van de proefdiervrije alternatieven is het niet mogelijk deze complexe interactie en het effect van een behandeling op het gedrag buiten het levende dier te bestuderen.

Het MPTP-inductie model voor de ziekte van Parkinson kan worden toegepast in verschillende diermodellen , zoals de muis, de kat en de aap. Echter bij de kat verdwijnen spontaan de klinische symptomen en bij knaagdieren gebeurt dit zelfs al binnen twee dagen waardoor in deze diersoorten alleen post-mortem het effect kan worden aangetoond. Ook zijn vroege premotorische symptomen zoals verstoorde slaap alleen waargenomen bij de marmosetaap en niet in knaagdieren. Dit is van belang voor het testen van behandelingen die ingrijpen op het vroege ziekteproces. Doordat de klinisch relevante Parkinsonsymptomen niet spontaan verdwijnen in het marmoset MPTP-model, is de marnaset geschikt om de progressie van het klinische beeld in tijd te volgen en belangrijk voor de voorspelling van de effecten van een behandeling in de kliniek.

Verminderen	<p>3.4.4.1 Bepaling van farmacokinetiek en dosis van nieuwe therapieën op relevante gedrags blomerkers in gezonde marmosets.: citaat: Een farmacokinetiek of een dosis bepaling op relevante gedrags blomerkers zal worden gedaan met het minimumaantal dieren dat nodig is. In het algemeen kan een farmacokinetiek studie met drie tot vier dieren volstaan. Het leidt vooral tot vermindering van het aantal dieren in de daaropvolgende MPTP-studie. Zo is i het bijvoorbeeld dan niet nodig om twee concentraties in een ziekte van Parkinson therapie-evaluatie studie te testen, omdat in de dosis bepaling al de optimale dosis is vastgesteld.</p>
	<p>3.4.4.2 Therapie evaluatie in het marnaset MPTP-model.: citaat: Voordat een behandeling in apen wordt getest is het uitgebreid getest in het laboratorium en/of in andere diersoorten, bijvoorbeeld in muizen. Hieruit moet zijn gebleken dat de behandeling veilig is en dat er voldoende aanwijzingen zijn dat het werkzaam kan zijn. Uit dat onderzoek worden behandelingen geselecteerd voor verder onderzoek in apen om de vertaalslag naar de mens te vergroten. Het aantal benodigde dieren wordt per experiment bepaald aan de hand van statische analyses middels power-analyse.</p> <p>Het minimaal aantal benodigde dieren zal worden gebruikt. Dit aantal zal afhangen van de eigenschappen van de behandeling en van het te gebruiken ziekte-inductie protocol voor de ziekte van Parkinson. Om het aantal dieren te verminderen wordt van tevoren het gedrag van elk dier gemeten waardoor er een preselectie kan plaatsvinden zodat er minder uitval verwacht wordt en daardoor minder dieren nodig zijn voor de studie. De gedragsveranderingen na ziekte inductie en na behandeling worden tevens met de eigen oorspronkelijke performance {nul waarden} vergeleken. Bovendien leidt het uitvoeren van meerdere gedragstesten In hetzelfde dier tot vermindering van het aantal proefdieren. Tevens zijn door de voorafgaande PK en dosisbepaling-studie minder testgroepen nodig voor het testen van de effectiviteit waardoor het aantal dieren kan worden verminderd.</p>

Verfijnen	
	<p>3.4.4.1 Bepaling van farmacokinetiek en dosis van nieuwe therapieën op relevante gedrags biomerkers in gezonde marmosets.: citaat: Er is veel geïnvesteerd in micro-methodes om zoveel mogelijk informatie te krijgen uit beperkte bloedvolume zodat de dieren niet hoeven te worden gesedeerd. Ook worden de dieren getraind om zo veel mogelijk vrijwillig mee te werken aan bijv. uitvangprocedures, bloedafnames of toedieningen. De dieren 'worden altijd sociaal gehouden in een voor de marmoset geschikte, verrijkte omgeving.</p>
	<p>3.4.4.2 Therapie evaluatie in het marmoset MPTP-model.: citaat: Voor de marmosetaap zijn diverse niet-invasieve gedragstesten ontwikkeld waarbij motor gerelateerde functies gekwantificeerd kunnen worden. Deze taken kunnen op een standaard manier worden uitgevoerd zonder extra variabele zoals de beïnvloeding van een observator. Een deel van deze testen kunnen plaatsvinden in de thuishooi. Een voorbeeld is de 24-uurs activiteit in de thuishooi middels een kleine draagbare actiemeter die aan de halsketting voor identificatie wordt bevestigd. Alle testen worden uitgevoerd met behulp van spontane motivatie gebruikmakend van de voorkeur van de aap, zoals de klimtoren, of met gebruikmaking van voedsel beloning bij de hand-oog coördinatie test. De apen worden eerst 'gehabitueerd' aan de opstelling en daarna stapsgewijs voor de taak getraind. Doordat er diverse gedragstesten op hetzelfde dier worden uitgevoerd, is een nauwkeurigere meting van het effect van het kandidaat medicijn mogelijk. Dit leidt tot verfijning en draagt tevens bij tot een nauwkeuriger bepaling van humane eindpunten.</p> <p>In geval van metingen van de hersenactiviteit (EEG), voor bijvoorbeeld slaap, wordt gebruik gemaakt van een telemetrisch systeem waardoor de aap zonder fixatie vrij kan bewegen in de thuishooi. De procedure voor het aanbrengen van EEG-elektrodes is in eerdere studies verfijnd, waardoor de uitval van dieren door technische problemen sterk verminderd is (Bakker et al., (2014) Recovery time after intra-abdominal transmitter placement for telemetric (neuro) physiological measurement in freely moving common marmosets (Callitrix jacchus), Animal Biotechnology 2014:10).</p>
3.4.4.1 Bepaling van farmacokinetiek en dosis van nieuwe therapieën op relevante gedrags biomerkers in gezonde marmosets.: voldoende uitgewerkt.	
3.4.4.2 Therapie evaluatie in het marmoset MPTP-model.: voldoende uitgewerkt	
Wettelijk vereist onderzoek Indien ja, is er sprake van herhaling?	Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.
Hergebruik	Er is sprake van hergebruik van dieren.

3.4.4.1 Bepaling van farmacakinetiek en dosis van nieuwe therapieën op relevante gedrags blomerkers in gezonde marmosets.: citaat: Dieren die zullen worden gebruikt in de experimenten, zijn mogelijk gebruikt in eerdere studies. Gezien de lange levensduur van deze species zal hergebruik plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in I art. 1 e van de Wet op de Dierproeven.

3.4.4.2 Therapie evaluatie in het marnaset MPTP-model.: citaat: Dieren die zullen worden gebruikt in de experimenten, zijn mogelijk gebruikt in eerdere studies. Gezien de lange levensduur van deze species zal hergebruik plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1 e van de Wet op de Dierproeven. Van belang is wel dat er géén eerdere ingrepen hebben plaatsgevonden met een blijvend effect die het gedrag of de motorfunctie beïnvloedt of die een invloed hebben op het functioneren van de hersenen.

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
3.4.4.1 Bepaling van farmacakinetiek en dosis van nieuwe therapieën op relevante gedrags blomerkers in gezonde marmosets.	Ja	volgens de richtlijn.
3.4.4.2 Therapie evaluatie in het marnaset MPTP-model.	Ja	volgens de richtlijn.

Naam proef		
3.4.4.1 Bepaling van farmacokinetiek en dosis van nieuwe therapieën op relevante gedragsblomarkers in gezonde marmosets.	HEP: In eerdere studies niet waargenomen, daarom is de inschatting dat iet meer dan 1% zal zijn.	citaat: Over het algemeen zijn er geen ernstige effecten te verwachten bij een farmacokinetiek en dosisbepaling. In geval een dier onverwacht ernstig ziek wordt en niet behandeld kan worden, dan zal dit als eindpunt gelden en wordt het dier gedood. In dat geval zal het ongerief maximaal matig zijn.
Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus)	Ongerief: 100% Matig	
3.4.4.2 Therapie evaluatie in het marrnaset MPTP-model.	HEP: <5%	Indien een dier ernstig gewichtsverlies (>15% van het lichaamsgewicht), of ziekteverschijnselen (zoals braken of diarree) gaat vertonen zal in overleg met de veterinaire worden besloten of behandeling nodig is of dat het dier uit de studie gehaald wordt. In geval van ernstige ziekteverschijnselen zal een dier direct uit studie worden genomen en geëuthanaseerd {gevolgd door uitgebreide sectie) om verder ongerief te voorkomen. Dit vindt plaats wanneer het eindpunt volgens de klinische score* is bereikt waarbij de maximale gemiddelde cumulatieve score >3,5 is voor tenminste twee dagen, of wanneer het algemene welzijn door andere omstandigheden ernstig wordt aangetast. Anders worden de dieren geëuthanaseerd op het eindpunt van de studie. De humane eindpunten voorkomen dat matig ongerief ernstig wordt en daarom is er geen ernstig ongerief in deze dierproef. * De klinische score is zowel belangrijk als uitkomstparameter tijdens de studie als voor het bepalen van het humane eindpunt. Klinische score omvat o.a. verminderd vachtonderhoud {poetsgedrag), apathie
Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus)	Ongerief: 100% Matig	

5 Samenvatting

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

In bijlage 3.4.4.1 wordt een dosis bepaling beschreven. Dit wordt PK/PD

studies genoemd. De DEC heeft hier een vraag over gesteld: "Tevens werd gevraagd naar de mogelijkheid om physiologically based pharmacokinetic modelling toe te passen" Hierop is geantwoord: "Physiologically based pharmacokinetic modelling kan niet worden toegepast aangezien het bij de in bijlage 1 beschreven experimenten niet zozeer gaat om kinetiek studies, maar om het vaststellen van de juiste dosis en het tijdstip voor het maximale effect".

De dieren worden in duo's gehuisvest, wanneer een kooigenoot de HEP of door andere proefomstandigheden wordt geëuthanaseerd, dan kan een dier de rest van de tijd individueel gehuisvest zijn. Het introduceren van een nieuwe kooigenoot wordt gezien als meer stressvol dan de individuele huisvesting.

Er is sprake van hergebruik in bijlage 3.4.4.1 1, dit is voldoende beschreven en valt binnen de wettelijke kaders.

Voordat medicijnen in marmosets worden getest zijn er eerst in vitro en testen in andere diersoorten uitgevoerd. Het inzetten van marmosets als geschikt dier voor het parkinson model is voldoende onderbouwd.

Vanwege de diersoort is een beoordeling achteraf vereist.

6 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning

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

Het Secretariaat adviseert dit project toe te wijzen.

Voorstel is om de vergunning te verlenen van 1 januari 2018 tot en met 31 december 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 december 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



8

Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Biomedical Primate Research Centre
10.2.e
Postbus 3306
2288 GJ RIJSWIJK
10.2.g

**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
AVD5020020172687
Bijlagen
2

Datum 13 september 2017
Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 12 september 2017. Het gaat om uw project "Evaluatie van nieuwe therapieën voor de ziekte van Parkinson". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD5020020172687. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

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

Factuur

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

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:

13 september 2017

Aanvraagnummer:

AVD5020020172687

Datum:
13 september 2017
Aanvraagnummer:
AVD5020020172687

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 50200
Naam instelling of organisatie: Biomedical Primate Research Centre
Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde: 10.2.e
KvK-nummer: 41146967
Straat en huisnummer: Lange Kleiweg 161
Postbus: 3306
Postcode en plaats: 2288 GJ RIJSWIJK
IBAN: 10.2.g
Tenaamstelling van het rekeningnummer: Stichting Biomedical Primate Research Centre

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: 10.2.e
Functie: 10.2.g
Afdeling: 10.2.g
Telefoonnummer: 10.2.e
E-mailadres: 10.2.e

Datum:
13 september 2017
Aanvraagnummer:
AVD5020020172687

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: 10.2.e
Functie: 10.2.g
Afdeling: 10.
Telefoonnummer: 10.2.e
E-mailadres: 10.2.e

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u? Nieuwe aanvraag
 Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
 Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Over uw project

Geplande startdatum: 1 januari 2018
Geplande einddatum: 1 januari 2023
Titel project: Evaluatie van nieuwe therapieën voor de ziekte van Parkinson
Titel niet-technische samenvatting: Evaluatie van nieuwe therapieën voor de ziekte van Parkinson
Naam DEC: 10.2.g
Postadres DEC: 10.2.g
E-mailadres DEC: 10.2.e

Betaalgegevens

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

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: Projectvoorstel
 Beschrijving Dierproeven
 Niet-technische samenvatting
Overige bijlagen: DEC-advies

Ondertekening

Naam: 10.2.e
Functie: 10.2.g
Plaats: Rijswijk
Datum: 12 september 2017

Datum:
13 september 2017
Aanvraagnummer:
AVD5020020172687



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Biomedical Primate Research Centre
10.2.e
Postbus 3306
2288 GJ RIJSWIJK
10.2.g

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
AVD5020020172687
Bijlagen
1

Datum 9 oktober 2017
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e

Op 12 september 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluatie van nieuwe therapieën voor de ziekte van Parkinson" met aanvraagnummer AVD5020020172687. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

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

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

U kunt met uw project "Evaluatie van nieuwe therapieën voor de ziekte van Parkinson" starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 januari 2018 tot en met 31 december 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.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie 10.2.g gevoegd. Dit advies is opgesteld op 11 september 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.

Datum:
9 oktober 2017
Aanvraagnummer:
AVD5020020172687

Bezwaar

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

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

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

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

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

Meer informatie

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

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

10.2.e en 10.2.g

Datum:
9 oktober 2017
Aanvraagnummer:
AVD5020020172687

ir. G. de Peuter
Algemeen Secretaris

Bijlagen:

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



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Biomedical Primate Research Centre
Adres: Postbus 3306
Postcode en plaats: 2288 GJ RIJSWIJK
Deelnemersnummer: 50200

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 januari 2018 tot en met 31 december 2022, voor het project "Evaluatie van nieuwe therapieën voor de ziekte van Parkinson" met aanvraagnummer AVD5020020172687, volgens advies van Dierexperimentencommissie 10.2.g Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Wetenschappelijk medewerker, Neurobioloog.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 12 september 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 12 september 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 12 september 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 11 september 2017, ontvangen op 12 september 2017.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1 Bepaling van farmacokinetiek en dosis van nieuwe therapieën op relevante gedrags biomerkers in gezonde marmosets.				
	Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus) / marmosets	32	100% Matig	
3.4.4.2 Therapie evaluatie in het marmoset MPTP-model.				
	Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus) / marmosets	105	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 december 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

Aanvraagnummer:
AVD5020020172687

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.



Aanvraagnummer:

AVD5020020172687

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:

AVD5020020172687

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.