

Inventaris Wob-verzoek W22-03		wordt verstrekt				weigeringsgronden				
nr.	document NTS2016534	reeds openbaar	niet	geheel	deels	5.1, lid 1c	5.1, lid 2e	5.1, lid 2f	5.1, lid 2h	5.2, lid 1
1	Aanvraag projectvergunning (met natte handtekening), d.d. 6 mei 2016				x		x		x	
2	Aanvraag projectvergunning (1), d.d. 6 mei 2016				x		x		x	
3	projectvoorstel (1)				x		x		x	
4	bijlage dierproeven (1)				x				x	
5	NTS (1)			x						
6	DEC-advies, d.d. 8 juni 2016				x		x		x	
7	aanvraag projectvergunning (2)				x		x		x	
8	projectvoorstel (2)				x		x		x	
9	bijlage dierproeven (2)				x				x	
10	NTS (2)	x								
11	begeleidende e-mail van CCD aan VGH bij aanvullende vragen, d.d. 14 juni 2016				x		x		x	
12	e-mail van VGH aan CCD antwoorden op aanvullende vragen, d.d. 14 juni 2016				x		x		x	
13	brief met aanvullende vragen, d.d. 14 juni 2016				x		x		x	
14	conceptadvies aan CCD met opmerkingen, d.d. 14 juni 2016				x		x		x	
15	e-mailwisseling tussen CCD en VGH met aanvullende vragen en antwoorden, d.d. 17/21 juni 2016				x		x		x	
16	conceptadviesnota aan CCD, d.d. 17 juni 2016				x		x		x	
17	conceptadvies aan CCD met opmerkingen, d.d. 17 juni 2016				x		x		x	
18	adviesnota aan CCD, d.d. 17 juni 2016				x		x		x	
19	interne e-mail overleg, d.d. 27 juni 2016				x		x			
20	interne e-mail overleg, d.d. 28 juni 2016				x		x			
21	interne e-mail voorstel, d.d. 1 juli 2016				x		x		x	
22	interne e-mail reactie voorstel, d.d. 1 juli 2016				x		x			
23	interne e-mail vervolg voorstel, d.d. 1 juli 2016				x		x			
24	interne e-mail, d.d. 1 juli 2016				x		x			
25	beschikking, d.d. 1 juli 2016				x		x		x	



26	e-mail van VGH aan CCD foutje beschikking, d.d. 5 juli 2016				x		x		x	
27	gecorrigeerde beschikking, d.d. 6 juli 2016				x		x		x	
28	terugkoppeling aan DEC, d.d. 6 juli 2016				x		x		x	
29	terugkoppeling (voorwaarde) 2017				x				x	
30	goedkeuring terugkoppeling 2017				x		x		x	
31	terugkoppeling 2018				x		x		x	
32	terugkoppeling 2019				x		x		x	
33	e-mail ontvangst terugkoppeling 2019, d.d. 19 mei 2020				x		x		x	
34	e-mail n.a.v. terugkoppeling 2019, d.d. 27 juni 2020				x		x		x	
35	e-mail van VGH met uitleg terugkoppeling 2019, d.d. 14 augustus 2020				x		x		x	
36	interne e-mail over terugkoppeling 2019, d.d. 7 december 2020				x		x		x	x
37	interne e-mail over terugkoppeling 2019, d.d. 8 december 2020				x		x		x	x
38	goedkeuring terugkoppeling 2019				x		x		x	
39	terugkoppeling 2020, d.d. 20 april 2021				x		x		x	
40	goedkeuring terugkoppeling 2020				x		x		x	





06 MEI 2016

## Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

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

### 1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in <b>5.1 lid2h</b>	
		<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie <b>5.1 lid2h</b>	
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde <b>5.1 lid2e</b>	
		KvK-nummer <b>5.1 lid2h</b>	<b>5.1 lid2h</b>
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer <b>5.1 lid2h</b>	
		Postbus <b>5.1 lid2h</b>	
		Postcode en plaats <b>5.1 lid2h</b>	
		IBAN <b>5.1 lid2h</b>	
		Tenaamstelling van het rekeningnummer <b>5.1 lid2h</b>	
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters <b>5.1 lid2e</b>	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie <b>5.1 lid2h</b>	
		Afdeling <b>5.1 lid2h</b>	
		Telefoonnummer <b>5.1 lid2h</b>	
		E-mailadres <b>5.1 lid2h</b>	
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters <b>5.1 lid2e</b>	<input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie <b>5.1 lid2h</b>	
		Afdeling <b>5.1 lid2h</b>	
		Telefoonnummer <b>5.1 lid2h</b>	
		E-mailadres <b>5.1 lid2h</b>	



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

## 2 Over uw aanvraag

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

## 3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- Startdatum 11 - 6 - 2016
- Einddatum 10 - 6 - 2021
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen.
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Gebruik van weefsel en cellen voor het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen met behulp van gevoelige bio-electrische metingen.
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC
- Postadres
- E-mailadres
- 5.1 lid 2h



## 4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 935 Lege  
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.  
*Bij een eenmalige Incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*  Via een eenmalige incasso  
 Na ontvangst van de factuur

## 5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?

### Verplicht

- Projectvoorstel  
 Niet-technische samenvatting

### Overige bijlagen, indien van toepassing

- Melding Machtiging

## 6 Ondertekening

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

Centrale Commissie  
 Dierproeven  
 Postbus 20401  
 2500 EK Den Haag

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

- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
- dat de dieren worden gehulsvest 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

5.1 lid2e

Functie

Plaats

5.1 lid2h

Datum

2 - 5 - 2016.

Handtekening

5.1 lid2e



10





## Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

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

### 1 Gegevens aanvrager

- 1.1 Heeft u een deelnemernummer van de NVWA?  
*Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.*
- Ja > Vul uw deelnemernummer in **5.1 lid2h**  
 Nee > U kunt geen aanvraag doen
- 1.2 Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.
- Naam instelling of organisatie **5.1 lid2h**  
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde **5.1 lid2e**  
KvK-nummer **5.1 lid2h** **5.1 lid2h**  
Straat en huisnummer  
Postbus  
Postcode en plaats **5.1 lid2h**  
IBAN  
Tenaamstelling van het rekeningnummer
- 1.3 Vul de gegevens van het postadres in.  
*Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.*
- 1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.
- (Titel) Naam en voorletters **5.1 lid2e**  Dhr.  Mw.  
Functie  
Afdeling  
Telefoonnummer **5.1 lid2h**  
E-mailadres **5.1 lid2e**
- 1.5 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.
- (Titel) Naam en voorletters  Dhr.  Mw.  
Functie  
Afdeling  
Telefoonnummer  
E-mailadres



- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- (Titel) Naam en voorletters  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 11 - 6 - 2016
- Einddatum 10 - 6 - 2021
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen.
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Gebruik van weefsel en cellen voor het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen met behulp van gevoelige bio-electrische metingen.
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC
- Postadres
- E-mailadres

5.1 lid2h



## 4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 935 Lege  
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.  
*Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*  
 Via een eenmalige incasso  
 Na ontvangst van de factuur

## 5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?

### Verplicht

- Projectvoorstel  
 Niet-technische samenvatting

### Overige bijlagen, indien van toepassing

- Melding Machtiging

## 6 Ondertekening

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

Centrale Commissie  
 Dierproeven  
 Postbus 20401  
 2500 EK Den Haag

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

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

Naam

5.1 lid2e

Functie

5.1 lid2h

Plaats

Datum

2 - 5 - 2016.

Handtekening

5.1 lid2e





## Format

### Projectvoorstel dierproeven

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

### 1 Algemene gegevens

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

### 2 Categorie van het project

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

### 3 Algemene projectbeschrijving

#### 3.1 Achtergrond

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

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



Aanleiding voor het huidige project zijn twee projecten die eerder door **5.1 lid2h** zijn uitgevoerd in het kader van geneesmiddelenontwikkeling. Het betreft de ontwikkeling van een modelsysteem voor de ziekte van Huntington en het uitvoeren van *ex-vivo* elektrofysiologisch onderzoek naar cystische fibrose. Beide ziektes hebben een chronisch en progressief karakter en zijn op dit moment ongeneeslijk.

Met betrekking tot de ziekte van Huntington hebben we tot nu toe vooral *in-vivo* onderzoeken uitgevoerd met behulp van microdialyse en *in-vivo* elektrofysiologie. Deze onderzoeken hebben zowel bijgedragen aan een betere fundamentele kennis over de Q175 muis als model voor de ziekte van Huntington alsmede aan de ontwikkeling van een potentieel geneesmiddel dat op dit moment wordt voorbereid voor klinische toepassing. Het diermodel is ook een zeer geschikte kandidaat om *ex-vivo* verschillen in elektrofysiologische eigenschappen in vergelijking met *wild-type* dieren te onderzoeken, en de mogelijkheid om de eventuele verschillen te beïnvloeden met potentiële geneesmiddelen (zie ook: Heikkinen *et al.* (2012) Characterization of Neurophysiological and Behavioral Changes, MRI Brain Volumetry and 1H MRS in zQ175 Knock-In Mouse Model of Huntington's Disease. PLoS ONE 7(12): e50717). Toepassing van *ex-vivo* elektrofysiologie is echter niet beperkt tot één aandoening van het centraal zenuwstelsel en ook niet tot aandoeningen van het centraal zenuwstelsel (zie bijvoorbeeld: Wang *et al.* (2015) Cognitive recovery by chronic activation of the large-conductance calcium-activated potassium channel in a mouse model of Alzheimer's disease. Neuropharmacology 92: 8-15).

Voor het cystisch fibrose onderzoek hebben we in het verleden gewerkt met een *ex-vivo* model, waarin in plakjes longweefsel het effect van een voorbehandeling met een potentieel geneesmiddel op de elektrofysiologische eigenschappen van de gecilieerde epitheel cellen zijn bepaald (volgens methode: Bourke *et al.* (2005) Development of a lung slice preparation for recording ion channel activity in alveolar epithelial type I cells. Respiratory Research 6(40)). Een verhoogde geleidbaarheid na kanaal activatie is daarbij een maat voor de expressie van additionele Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator kanaal-eiwitten in het celmembraan. De metingen werden uitgevoerd met *patch-clamp* technieken, waarbij met glazen elektrodes transmembraan potentialen (en stromen) kunnen worden gemeten met ongeëvenaarde resolutie (tot op single-channel niveau). Deze techniek, die we ook in de hier voorgestelde proeven willen toepassen kan worden gebruikt voor het bepalen van:

- Eigenschappen van actiepotentialen (amplitude, duratie, vorm)
- Synaptische potentialen en stromen (currents)
- Meten van aantallen en eigenschappen van specifieke ionkanalen
- Structurele verbindingen tussen cellen vaststellen door gebruik van stimulatie elektrodes (lange termijn potentiatie of depressie *ex-vivo*)
- Farmacologische effecten van nieuwe chemische identiteiten door competitie met bekende receptor (ant-)agonisten

De techniek kan worden toegepast op individuele cellen gewonnen uit weefsel of primaire weefselkweek (geschikt om naar eigenschappen te kijken van individuele cellen), maar ook op acuut geprepareerde weefsel plakjes, waarmee informatie over verbindingen (en de invloed van geneesmiddelen hierop) tussen neuronen kan worden bepaald. De techniek kan tevens worden ingezet om op meer fundamenteel niveau te kijken naar verschillen in geleiding of cel-connectiviteit tussen diermodellen en *wild-type* soortgenoten (of onbehandelde dieren). Deze gegevens dragen bij aan de opheldering van onderliggende fundamentele mechanismen van het ziekte proces.

**5.1 lid2h** voert contractonderzoek uit voor farmaceutische bedrijven en kennisinstituten die de ontwikkeling van potentiële nieuwe geneesmiddelen ondersteunen. De uitgevoerde onderzoeken zijn vooral (maar niet uitsluitend) gericht op ziekten van het centraal zenuwstelsel. De experimenten zijn gebaseerd op specialistische technieken zoals *in-vivo* microdialyse en elektrofysiologie en zijn erop gericht om gegevens te verzamelen over de stoffen op basis waarvan een selectie kan worden gemaakt of een stof geschikt is voor toepassing in de kliniek.

Aan ons huidige spectrum van technieken hebben wij recent de *ex-vivo* elektrofysiologie toegevoegd voor de studie in het cystisch fibrose model. Nu willen we de techniek verder uitbreiden naar andere diermodellen voor onder andere ziekten van het centraal zenuwstelsel. De techniek levert een



belangrijke bijdrage aan de vermindering en verfijning van dierproeven. De techniek is zeer geschikt om de onderliggende mechanismen van ziekteprocessen te onderzoeken en het effect van experimentele stoffen op deze mechanismen te kunnen vaststellen.

Toelating van nieuw ontwikkelde geneesmiddelen wordt gereguleerd door onder andere de FDA en de EMA. Eén van de eisen voor toelating is dat geneesmiddelen in detail worden getest op werking en veiligheid in proefdieren. De gegevens verzameld in de hier voorgestelde experimenten dragen bij aan de kennis over de werking van experimentele stoffen en kunnen bijdragen om aan deze wettelijke eis te voldoen.

### 3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

4. 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?
5. In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Doel van het project is het toepassen van *patch-clamp* technieken voor de opheldering van mechanismen die een rol spelen bij neuropsychiatrische aandoeningen zoals de ziekte van Huntington. We willen dit doen door de karakteristieken van cellen van *wild-type* dieren te vergelijken met die van cellen gewonnen uit het voorgestelde diermodel van de ziekte van Huntington. Het project voorziet tevens in de mogelijkheid om nieuwe geneesmiddelen te testen in de context van deze mechanismen. Onderzocht zal worden of de gemeten verschillen tussen *wild-type* en diermodel kunnen worden gemoduleerd en welke rol de kanaal-activiteit speelt bij deze modulatie. Metingen kunnen worden uitgevoerd op het niveau van single channels, waarbij het effect van een potentieel geneesmiddel kan worden bepaald op de geleidbaarheid van één enkel specifiek membraan-eiwit (zie bijvoorbeeld: Fischer *et al.* (2008) Activation of the CFTR Cl<sup>-</sup> channel by trimethoxyflavone *in vitro* and *in vivo*. Cell. Physiol. Biochem. 22(5-6):685-92), maar ook op de connectiviteit tussen groepen cellen (zie bijvoorbeeld: Kroker *et al.* (2013) Restoring long-term potentiation impaired by amyloid-beta oligomers: comparison of an acetylcholinesterase inhibitor and selective neuronal nicotinic receptor agonists. Brain Res. Bull. 96:28-38).

Hoewel *ex-vivo* elektrofysiologisch onderzoek niet de totale fysiologie van het proefdier reflecteert en dus geen uitspraak kan doen over werking van een experimentele stof in een intact organisme, kan het wel informatie opleveren over werkzaamheid en werkingsmechanisme van deze stof. Een belangrijk voordeel van deze techniek is dat het een aantoonbare verfijning en vermindering van aantal benodigde dieren oplevert.

De haalbaarheid van het voorgestelde project is aantoonbaar op basis van eerdere ervaringen met het cystisch fibrose project alsmede de ervaring van de betrokken onderzoekers. Eén van de onderzoekers is nauw betrokken geweest bij de opheldering van de mechanismen achter verminderde vasoconstrictie en het ontstaan van cystes in de nier bij patiënten met polycystische nierziekte (Cell (2009)139:587-596 en Cell reports (2012) 1:241-250). De andere betrokken onderzoeker heeft jarenlange ervaring met uitvoeren van *whole cell patch-clamp* in hersenplakjes. Deze onderzoeker heeft aan §.1 lid2e gewerkt aan gepaarde *whole-cell patch clamp* metingen van neuronen in acute plakjes van de onderste olijkern. Doel van de experimenten was het meten van de sterkte van connecties tussen de synapsen (manuscripten in voorbereiding). Bij §.1 lid2h was deze onderzoeker verantwoordelijk voor het uitvoeren van het cystisch fibrose project.

### 3.3 Belang

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

Het voorgestelde onderzoek levert een belangrijke bijdrage aan het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen tegen neuropsychiatrische aandoeningen. Naar schatting 25% van de wereld bevolking



krijgt in zijn leven te maken met aandoeningen zoals de ziekte van Parkinson, Huntington of Alzheimer, schizofrenie, of depressie (WHO). Ongeveer de helft van de volwassenen heeft een chronische ziekte die die in veel gevallen uiteindelijk ook de oorzaak is van het overlijden (70%) (NHC). Op dit moment zijn voor deze ziekten maar beperkt geneesmiddelen beschikbaar. Het is daarom van groot belang dat nieuwe farmaca worden ontwikkeld. Elektrofysiologisch onderzoek op het niveau van weefsel of cellen is een goede screeningsmethode voor de werkzaamheid van nieuwe geneesmiddelen, die samengaat met een *high throughput* en gebruik van relatief weinig proefdieren.

### 3.4 Onderzoeksstrategie

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

Het project is erop gericht om elektrofysiologische gegevens te verzamelen van weefsel of cellen gewonnen uit proefdieren. Dieren worden gehuisvest in sociale groepen en eventueel voorbehandeld met een te onderzoeken stof (acuut of chronisch). Voordat de experimenten beginnen worden de dieren getermineerd en wordt relevant weefsel verzameld, waarmee feitelijk de dierproef is beëindigd. Het verzamelde weefsel wordt vervolgens behandeld om gebruikt te kunnen worden voor *patch clamp* studies.

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

Alle proeven zullen de volgende stappen volgen:

- 1) Aankomst dieren, huisvesting in *holding room* gevolgd door eventuele voorbehandeling met een experimentele stof of voorbereidende handelingen om een diermodel te induceren
- 2) Termineren van de individuele dieren onder anesthesie
- 3) Verzamelen van het orgaanweefsel dat onderzocht zal worden
- 4) Voorbehandeling van het weefsel voor elektrofysiologisch onderzoek, bijvoorbeeld:
  - Weefsel plakjes bereiden in *carbogeen/slicing* solution
  - Weefsel plakjes bereiden voor primaire celkweek
  - Weefsel dissociatie in fysiologische oplossing
  - Weefsel dissociatie voor primaire celkweek
- 5) Ex-vivo analyse van cellen / weefsel

Zoals eerder beschreven, kan met behulp van deze techniek op fundamenteel niveau onderzoek worden gedaan naar de elektrofysiologische verschillen tussen cellen gewonnen uit het dier dat een ziektemodel representeert en cellen afkomstig van *wild-type* dieren. In een vervolgstudie is het mogelijk om geconstateerde verschillen te moduleren met behulp van potentiële geneesmiddelen.

#### 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.

Naar aanleiding van door ons (of anderen) uitgevoerd *in-vivo* onderzoek is het mogelijk om met *ex-vivo* electrofysiologie:

- Mechanismen te onderzoeken die onderliggend zijn aan de bestudeerde ziektebeelden
- Verschillende moleculen te testen, die lijken op een *in-vivo* succesvolle stof, om de beste kandidaat te bepalen voor verder *in-vivo* onderzoek

Vraagstellingen van cliënten kunnen een verschillende experimentele aanpak vereisen, zowel *in-vivo*:

- de ontwikkeling van een diermodel
- specifieke aandacht voor ongerief bij genetisch gemodificeerde dieren
- de acute of chronische voorbehandeling met een experimentele stof

als *ex-vivo*:

- weefsel-plakjes
- individuele cellen
- primaire celkweek
- *cell-attached* / *whole cell* / *excised patch* / *inside out patch* experimenten
- *voltage-* of *current-clamp*



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

Volgnummer	Type dierproef
1	<i>Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen.</i>
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	





## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

1. Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
2. Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
3. Meer informatie vindt u op de website [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl).
4. Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

5.1 N320

- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.

5.1 N320

- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

Volgnummer	Type dierproef
1	Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen.

### 2 Beschrijving dierproeven

#### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

*Ex-vivo* elektrofysiologie biedt een uitstekende mogelijkheid om op cel en eiwit niveau mechanismen van ziektes te bestuderen, alsmede de effecten van potentiële geneesmiddelen vast te stellen. De methode voegt voor ons bedrijf een belangrijke waarde toe aan de bestaande *in-vivo* expertise. Door het combineren van gegevens uit *in-vivo* en *ex-vivo* studies worden zowel moleculaire als fysiologische aspecten meegenomen bij de bestudering van de effectiviteit en werking van potentiële nieuwe geneesmiddelen. De *ex-vivo* techniek kan in het voortraject of tijdens de opvolging van *in-vivo* studies op twee manieren een belangrijke bijdrage leveren aan het verminderen van benodigde aantallen proefdieren.

- Als de experimentele stoffen niet effectief blijken in *ex-vivo* toepassingen, dan is verder *in-vivo* onderzoek niet zinvol
- Door individuele cellen/weefsel (plakjes) te gebruiken is het mogelijk om meer gegevens per gebruikt dier te verzamelen, of meerdere stoffen te testen, dan wanneer het intacte dier zou worden gebruikt

*Ex-vivo* studies zijn ook te zien als een verfijning van het geneesmiddelen onderzoek, aangezien het ongerief voor de dieren lager is dan in *in-vivo* studies, onder meer omdat er geen post-operatieve periode is waarin ongerief kan worden ondervonden.

Bij chronische (neuropsychiatrische) aandoeningen is de elektrische activiteit van bepaalde (neuronale) cellen vaak veranderd. Het bestuderen van deze veranderingen (door een vergelijking te maken tussen *wild-type* dieren en dieren met het ziektemodel) en het testen van stoffen met de potentie om deze verandering terug te draaien is het mogelijk om nieuwe geneesmiddelen te ontwikkelen om genezing of verlichting te brengen van deze aandoeningen.



De hier beschreven proeven zijn bedoeld om niet alleen de effecten op individuele cellen te meten, maar ook van cellen in samenhang met het omringende weefsel. Deze laatste aanpak is van groot belang om de connectiviteit tussen de cellen (in de hersenen) te kunnen bestuderen (lange termijn potentiatie/depressie).

Primaire parameters die worden bepaald met behulp van cellen of weefsel dat uit de dieren wordt genomen zijn:

- 1) algemene elektrofysiologische eigenschappen (zoals de membraan rust-potentiaal, weerstand (geleidbaarheid) en de capaciteit van het celmembraan)
- 2) eigenschappen van spontane of gestimuleerde actiepotentialen (zoals frequentie en amplitude)
- 3) eigenschappen van spontane of gestimuleerde synaptische potentialen (zoals frequentie en amplitude)
- 4) transmembrane stromenstromen of zelfs stromen van individuele ion-kanalen, op basis van gedefinieerde farmacologische eigenschappen

De exacte parameters worden per experiment bepaald op basis van de vraagstelling naar het veronderstelde mechanisme van de experimentele stof. De beschreven parameters zijn standaard voor de *ex-vivo patch-clamp* techniek. Deze aanpak wordt beschouwd als de gouden standaard voor *single cell* elektrofysiologie en kan daarom worden vergeleken met een ruime hoeveelheid literatuur data.

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.

Dieren worden ontvangen in het vivarium en normaal gehuisvest (volgens EU 2010/63 richtlijnen). Afhankelijk van het toe te passen diersmodel en het doel van de proef kan het nodig zijn om de dieren voor terminatie te behandelen door toediening van een experimentele stof (of vehicle). Toediening kan zowel éénmalig zijn als (sub-)chronisch.

Toedieningsroutes zijn onder andere:

- subcutaan
- intraperitoneaal
- oraal (per gavage of in het dieet)
- rectaal
- intranasaal
- intraveneus
- intramusculair

Ten behoeve van bepaling van de concentratie van de te onderzoeken stof, ten tijde van het experiment, kunnen bloed monsters worden afgenomen (via een wang-vene punctie bij de muis en een staart-vene punctie bij de rat). Voor het uitnemen van weefsel ten behoeve van de elektrofysiologische experimenten wordt het dier onder diepe anesthesie gebracht en getermineerd volgens bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Het bedoelde weefsel, (meestal de hersenen) wordt zo snel mogelijk verwijderd en verder bewerkt. Indien nodig (bv om de kinetiek van een experimentele stof te kunnen bestuderen) kunnen andere weefsels worden uitgenomen.

Verdere bewerking van het weefsel kan bestaan uit:

- het maken van weefselplakjes met behulp van een precisie snijapparaat bijvoorbeeld een vibratome
- het isoleren van individuele cellen door middel van chemische of fysische dissociatie technieken

Afhankelijk van verdere toepassing wordt acute elektrofysiologie of verdere primaire cel/weefsel kweek toegepast; daartoe wordt het weefsel in een fysiologisch relevant medium opgevangen en verder bewerkt.

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

Op basis van het aantal te verwachten succesvolle metingen per verzameld weefsel van een individueel dier en een statistische (power) analyse is het mogelijk om het aantal benodigde dieren per experiment te bepalen.

Het aantal succesvolle metingen per verzameld weefsel is afhankelijk van:



- of de vraagstelling beter met cellen of met weefselplakjes kan worden beantwoord
- de tijd die nodig is voor de individuele metingen in verhouding tot de *ex-vivo* overleving van de cellen of het weefsel (de overleving is afhankelijk van de condities waaronder de cellen of het weefsel worden bewaard: kweek-medium of buffer met carbogeen; temperatuur en luchtvochtigheid)
- het aantal relevante plakjes of cellen dat per weefsel kan worden verkregen

Het aantal benodigde metingen hangt af van de verwachte variatie in de elektrofyysiologische parameters van de verschillende cel/receptor subtypes. Indien een experimentele stof wordt getest zijn ook de te verwachten variatie in de response op de stof, het aantal concentraties dat nodig is en de relevante controles van invloed op het aantal benodigde dieren.

## **B. De dieren**

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

Voor deze experimenten wordt gebruik gemaakt van ratten of muizen. De keuze van diersoort en geslacht voor de individuele protocollen is mede afhankelijk van de wens van de cliënt. De cliënt onderzoekt een stof vaak parallel in verschillende studies (bijvoorbeeld naast farmacologie ook toxicologie), waarbij de kwaliteit van de resultaten optimaal is wanneer diersoort, ras en geslacht in de verschillende studies overeenkomen. De keuze van de diersoort kan ook afhankelijk zijn van de aanwezigheid van bepaalde receptor subtypes. In de meeste gevallen (meer dan 95 %, op basis van experimenten in het verleden) zal worden gewerkt met jong volwassen, mannelijke dieren. Wij zullen de mogelijkheid van gebruik van vrouwelijke dieren uitdrukkelijk meenemen in de discussie met onze cliënten. Dieren zullen in alle gevallen van gekwalificeerde fokkers worden verkregen.

Zoals aangegeven zijn de beschreven studies zowel toepasbaar om verschillen tussen een (genetische bepaald) pathologie-diermodel en de betreffende controle dieren te onderzoeken, alsmede voor het testen van potentiële geneesmiddelen in deze modellen. Voorbeelden van voor deze studies relevante diermodellen worden hieronder beschreven. Bij gebruik van een dergelijk model moet rekening worden gehouden met het potentiële intrinsieke ongerief van het model. In het geval dat er een voor ons nieuw diermodel zal worden geïntroduceerd, zal toetsing van het intrinsieke ongerief gebeuren door de IvD met ondersteuning van experts die bekend zijn met het model.

Ziekte van Parkinson: het 6-hydroxy-dopamine laesie model is een model dat wij veel hebben toegepast (Iderberg *et al.* (2015) NLX-112, a novel 5-HT1A receptor agonist for the treatment of L-DOPA-induced dyskinesia: Behavioral and neurochemical profile in rat. *Exp. Neurol.* 271:335-50). Daarnaast zijn er verschillende algemeen gebruikte genetische modellen zoals de beta-amyloïde- en de tau-overexpressie muis (bijvoorbeeld: Grueninger *et al.* (2010) Phosphorylation of Tau at S422 is enhanced by A $\beta$  in TauPS2APP triple transgenic mice. *Neurobiol. of Disease* 37: 294-306).

Ziekte van Alzheimer: hier zijn vooral genetisch gemodificeerde modellen beschikbaar. Veel gebruikte voorbeelden zijn muizen die het amyloïde (precursor) eiwit of presenilin mutaties tot expressie brengen.

Ziekte van Huntington: ook hiervoor zijn vooral genetische modellen beschikbaar. Wij hebben veel ervaring met het gebruik van de zogenaamde R6/2 muizen en de Q175 muizen. Beide soorten muizen brengen het Huntingtine eiwit tot expressie met *glutamine repeats* (zie: Menalled *et al.* (2012) Comprehensive Behavioral and Molecular Characterization of a New Knock-In Mouse Model of Huntington's Disease: zQ175. *PLOS one* 7(12): e49838)

Cystische fibrose: voor cystische fibrose wordt een genetisch *knock-out* model gebruikt van het *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* gen (zie Clarke *et al.* (1992) Defective epithelial chloride transport in a gene-targeted mouse model of cystic fibrosis. *Science* 257(5073): 1125 -8)

Polycystische nierziekte: voor polycystische nierziekte wordt een genetisch *knock-out* model gebruikt van het *transient receptor potential* kanaal subtype P-1 gen (Lantinga-van Leeuwen *et al.* (2004) Lowering of Pkd1 expression is sufficient to cause polycystic kidney disease. *Hum. Mol. Genet.* 13(24):3069-77)



**Geschatte aantallen:**

Gedurende de geldigheid van de aanvraag verwachten wij 10 studies uit te voeren waarbij een vergelijking tussen diermodel en controle (wild-type) wordt gevraagd. Deze schatting is gebaseerd op het recent uitgevoerde experiment en liggende aanvragen voor het lopende jaar. Voor dit type studie zullen, afhankelijk van de te verwachten verschillen tussen het diermodel en de controles, 6-12 dieren nodig zijn per groep (gemiddeld 9). Deze schatting is gebaseerd op een combinatie van statistische en praktische factoren:

- Het aantal succesvolle metingen dat per dier mogelijk is
- De tussen dier en tussen cel variatie van de te bepalen parameter
- De grootte van het gewenste meetbare effect
- Het niveau van gewenste statistische significantie (meestal  $p < 0.05$ )

Voorafgaande aan de experimenten zal, waar mogelijk, op basis van beschikbare informatie een poweranalyse worden uitgevoerd om het exacte aantal dieren te bepalen.

Wanneer het gaat om een model met progressieve symptomen kan het nodig zijn dieren op verschillende (3 tot 4) leeftijden in te zetten; dit zal naar schatting in de helft van de gevallen zo zijn.

**Totaal:**

- 1) 5 studies met 9 controle en 9 "diermodel" dieren; één leeftijd: totaal  $5 \times (9+9) = 90$  dieren.
- 2) 5 studies waarbij 9 + 9 dieren per leeftijd categorie nodig zijn; 3 leeftijden:  $5 \times (9+9) \times 3 = 270$  dieren.

Totaal voor elektrofysiologische diermodel karakterisering:  $90 + 270 = 360$  dieren.

Voor het testen van nieuwe geneesmiddelen in gekarakteriseerde modellen verwachten we maximaal 5 experimenten uit te voeren. Uitgaande van 2 doseringen, een positieve en een negatieve controle zouden er  $5 \times (2+1+1) = 20$  experimentele groepen nodig zijn voor het diermodel en eventueel 20 groepen voor de controle dieren (wild-type). Wederom zal het aantal benodigde dieren liggen tussen de 6-12 dieren (gemiddeld 9) afhankelijk van de variatie in het te verwachten effect.  $20 + 20$  groepen van 9 dieren zijn 360 dieren.

In totaal verwachten we in de komende 5 jaar 720 dieren nodig te hebben

**C. Hergebruik**

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

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

Nee

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

**D. Vervanging, vermindering en verfijning**

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

Vervanging van deze experimenten is in beperkte mate mogelijk door gebruik te maken van cel-lijnen van cellen die de betrokken receptoren tot expressie brengen. Echter, wanneer het aankomt op het bestuderen van interacties tussen cellen in neuronale netwerken of de effecten van progressieve ziektebeelden, waarbij de expressie van bepaalde pathogene eiwitten (bijvoorbeeld een polyQ Huntingtine eiwit dat plaques vormt) een rol spelen is het niet mogelijk om dit in een volledig *in-vitro* model na te bootsen. In een dergelijk geval is toepassing van een *ex-vivo* model, waarin de neuronale connecties of het ziektebeeld zich hebben kunnen ontwikkelen, van groot belang.



Vermindering van aantallen dieren in deze experimenten is mogelijk wanneer meerdere cellen of weefselplakjes (met relevante celtypes) kunnen worden geïsoleerd uit één dier en waarbij deze vervolgens lang genoeg in een goede conditie kunnen worden gehouden voor het uitvoeren van de diverse metingen. Door tussentijdse evaluatie van de meetgegevens kan het mogelijk zijn dat minder dieren nodig zijn dan vooraf werd verwacht op basis van de statistische (power-)analyse en het geschatte aantal metingen per dier. Wanneer er wordt gekeken naar één specifiek onderdeel van de pathofysiologie, wordt er een reductie in de variatie verwacht, waardoor statistisch relevante resultaten sneller kunnen worden bereikt. Daarnaast is het mogelijk om in één cel meerdere karakteristieken te bepalen (bijvoorbeeld rust-potentiaal, capaciteit en (geïnduceerde) vuurfrequentie).

*Ex-vivo* uitvoeren van de experimenten is impliciet een verfijning van de experimenten, aangezien de dieren van het verzamelen van de gegevens zelf geen negatieve gevolgen meer ondervinden. Wel kan er minimaal ongerief ontstaan ten gevolge van een eventuele toediening tijdens de voorbehandeling. Verfijning van de experimenten is mogelijk door een optimaal experimenteel protocol toe te passen waarbij de onderzoeker blind is voor de groep waaraan experimenten worden verricht (diermodel dan wel controle groep). Dit betekent dat een tweede persoon de gegevens uitwerkt om tevens te bepalen of er voldoende gegevens per groep beschikbaar zijn. Het *Ex-vivo* onderzoek van de experimentele stof verlaagt het risico op onnodige *in-vivo* testen van niet-actieve stoffen.

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.

Kans op pijn, leiden en angst wordt geminimaliseerd doordat de dieren minimaal één maal per dag (twee maal op werkdagen) worden gecontroleerd. Hierbij wordt gekeken naar:

- algemeen welbevinden
- gewicht van het dier
- algemene uiterlijke kenmerken duidend op ongerief (pijn, lijden of angst)

Wanneer gewerkt wordt met diermodellen met bekend intrinsiek ongerief, wordt extra aandacht besteed aan symptomen behorend bij het diermodel. Na eventuele toediening van een experimentele stof worden de dieren geobserveerd voor mogelijke negatieve effecten op het welzijn.

Milieueffecten zijn niet van toepassing.

## 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.

Cliënten die ons vragen de experimenten uit te voeren doen dit 1) vanwege onze expertise en 2) omdat de mogelijkheden om binnen de eigen instelling deze experimenten uit te voeren niet aanwezig zijn. Dit betekent dat deze experimenten vaak voor het eerst door ons worden uitgevoerd. De experimentele stoffen die worden onderzocht zijn dikwijls door de cliënt ontwikkeld en niet eerder met de bovengenoemde methoden onderzocht. Goede kennis van de literatuur en netwerken met toponderzoekers in het veld minimaliseren de kans op duplicaat experimenten. In bepaalde gevallen is echter ter validatie van een model of testmethode juist wel replicatie van eerder gepubliceerd werk nodig.

## 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.

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Welzijn kan worden aangetast:

- bij gebruik van diermodellen is het van belang om rekening te houden met model-specifieke aantasting van het welzijn (bijvoorbeeld (maar niet uitsluitend) het ontstaan van gezwellen in oudere dieren
- onverwachte effecten van de experimentele stof die nog niet eerder zijn geobserveerd in eerdere experimenten

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

- specifiek ongerief van een diermodel van de bestudeerde ziekte heeft meestal te maken met symptomen die ook bij patiënten met deze ziekte worden waargenomen en kunnen verergeren naarmate de dieren ouder worden.
- oorzaak voor het onbekend zijn van mogelijke bijwerkingen is dat de stoffen (en/of toedieningsmethode) die getest zullen worden over het algemeen niet uitgebreid zijn toegepast in mens of dier. Daarmee is het vaak niet mogelijk alle verschillende bijwerkingen te kennen. Indien een stof ernstige bijwerkingen vertoont in studies wordt deze uiteraard niet toegelaten tot verdere testen en worden klinische toepassingen irrelevant.

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

- de noodzaak van inzet van pathologische diermodellen wordt vooraf in detail met de cliënt besproken. Het gedrag van de dieren wordt voor en tijdens experimenten geobserveerd om vroegtijdig te kunnen ingrijpen bij ongerief.
- waar mogelijk maken we gebruik van model specifieke ongerief scoring lijsten, of zetten we deze op in overleg met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- bij de cliënt wordt altijd navraag gedaan naar resultaten van in-vitro en in-vivo studies waarbij de stof in vergelijkbare concentraties is toegediend.

### 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.

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

### 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.

De experimenten zelf zijn in principe terminaal. Toediening van de experimentele stof voor termineren is in principe licht ongerief voor de dieren. Wanneer diermodellen met intrinsiek ongerief worden ingezet zal het ongerief matig worden.

## Einde experiment

### L. Wijze van doden

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

Nee

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

Voor deze experimenten is het essentieel dat weefsel wordt uitgenomen. In veel gevallen betekent dit dat volledige organen verwijderd moeten worden, wat onverenigbaar is met het verder leven van de dieren. Zij worden derhalve onder anesthesie geëuthanaseerd.

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

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



**Format****Niet-technische samenvatting**

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

**1 Algemene gegevens**

1.1 Titel van het project	Gebruik van weefsel en cellen voor het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen met behulp van gevoelige bio-elektrische metingen.
1.2 Looptijd van het project	5 jaar
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	Ex-vivo, patch-clamp, geneesmiddelen ontwikkeling, mechanisme pathologisch model

**2 Categorie van het project**

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

**3 Projectbeschrijving**

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	<p>Alle cellen in het lichaam beschikken over karakteristieke elektrische eigenschappen. Deze eigenschappen kunnen veranderen wanneer ziekteprocessen optreden. Vooral in het centraal zenuwstelsel is de elektrische communicatie tussen cellen van zeer groot belang voor het optimaal functioneren van tal van fysiologische processen. De communicatie is te meten met behulp van elektrofysiologie. Bij deze techniek wordt in weefsel of cellen een kleine (&lt; dan 1 micrometer in diameter) glazen electrode ingebracht, waarmee specifieke elektrische signalen kunnen worden gemeten van individuele eiwitten, maar ook tussen verschillende cellen.</p> <p>Dit project heeft twee doelstellingen:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1) Het bestuderen van mogelijke afwijkingen van de elektrische</li></ol>
---	--



eigenschappen en connectiviteit van cellen die afkomstig zijn uit een diermodel van een bepaald ziektebeeld. Deze verschillen leveren belangrijke informatie op over het verloop en de oorzaak van de betreffende ziekte.

- 2) Het testen van stoffen die de gevolgen van de ziekte op de elektrische eigenschappen verminderen of wegnemen. Indien succesvol, zijn deze stoffen veelbelovende kandidaten voor verdere ontwikkeling in de kliniek.

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

Het project levert kennis op over pathologische mechanismen die ten grondslag liggen aan progressieve en uiteindelijk dodelijke aandoeningen van het centrale zenuwstelsel zoals de ziektes van Alzheimer, Parkinson en Huntington. Met dezelfde techniek kunnen ook niet-neuronale ziekten zoals cystische fibrose worden onderzocht. De techniek maakt het bovendien mogelijk om stoffen te testen die de gevonden afwijkingen kunnen verminderen en derhalve kandidaat zijn als geneesmiddel om de ziekte of ziekte verschijnselen te bestrijden.

3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?

Voor dit onderzoek zullen ratten en muizen worden gebruikt. In totaal verwachten we 720 dieren te zullen gebruiken over een periode van 5 jaar.

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

Voor het uitvoeren van deze experimenten is het noodzakelijk vers weefsel of cellen te gebruiken. Dit houdt in dat er dieren worden geëuthanaseerd om vervolgens weefselplakjes en/of cellen te verzamelen. Hoe sneller dit proces plaatsvindt, des te beter zullen de elektrische eigenschappen van cellen en/of weefsel bewaard blijven. In enkele gevallen zullen de dieren vooraf een acute of chronische behandeling met een potentieel geneesmiddel ondergaan, zodat we kunnen aantonen dat de stof effect heeft in het gehele dier (in vergelijking met onbehandelde dieren). Binnen de doelstelling van de experimenten valt ook onderzoek gericht op de gevolgen van ziekten op cel- of zelfs eiwit-niveau. Dit betekent dat in sommige gevallen gebruikt moet worden gemaakt van diermodellen die symptomen kunnen vertonen van de te bestuderen ziekte. Deze symptomen kunnen bij individuele dieren leiden tot matig ongerief op basis van het toegepaste diermodel.

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

Het verzamelen van de gegevens voor deze experimenten vindt plaats als het dier reeds is getermineerd, zonder voorbehandeling of toepassing van een diermodel zijn de experimenten daarom terminaal. Behandeling voor terminatie met een potentieel geneesmiddel kan mogelijk extra ongerief veroorzaken, in dit geval is het ongerief voor de dieren licht. Wanneer een diermodel van een ziektebeeld wordt toegepast, waarbij symptomen tot uiting komen kan het ongerief hierdoor oplopen tot matig.

3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop?

Voor de experimenten die wij willen uitvoeren moeten volledige organen worden verwijderd, dit heeft tot gevolg dat het dier niet in leven kan worden gehouden. Het dier wordt derhalve onder anesthesie geëuthanaseerd.

## 4 Drie V's

4.1 **Vervanging**  
Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom

De aangevraagde proeven zijn bedoeld om effecten (van ziekte of geneesmiddelen) op individuele cellen of cellen in samenhang met omringend weefsel te meten. Deze laatste aanpak is van groot belang om connectiviteit tussen cellen (in de hersenen) te kunnen bestuderen.



proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

Voor een zeer klein deel zouden deze experimenten te vervangen zijn door gebruik te maken van gekweekte cellen. Een dergelijk model geeft echter alleen informatie over de werking van een experimentele stof op een specifiek eiwit in de cel. Hoewel dit belangrijke informatie is om verder te kunnen gaan met de ontwikkeling van een potentieel geneesmiddel, is het niet voldoende om te weten of de betreffende stof ook op het ziekteproces (pathologiesche context) effect heeft. Het ontwikkelen van symptomen en de onderliggende oorzaken zijn vaak multifactorieel en daardoor moeilijk na te bootsen in een systeem waarin één enkel eiwit kan worden bestudeerd. Het is daarom essentieel dat stoffen getest kunnen worden op cellen of weefsels die uit een levend organisme afkomstig zijn. Humaan weefsel is voor dergelijk onderzoek maar heel beperkt beschikbaar (zeker wanneer het gaat om aandoeningen van de hersenen, daarom is het gebruik van proefdieren noodzakelijk).

Een tweede beperking van gekweekte cellen is dat ze zelden de organisatie aannemen die vergelijkbaar is met *in-vivo* weefsels. Het is dus moeilijk om in gekweekte cellen connectiviteit tussen cellen goed te bestuderen.

#### 4.2 Vermindering

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

In enkele gevallen is het mogelijk om meerdere metingen in het verzameld weefsel van een individueel proefdier te doen, dit in tegenstelling tot *in-vivo* experimenten waar per dier maar één elektrofysiologisch experiment kan worden uitgevoerd. Dit levert al een duidelijke besparing op van het aantal benodigde dieren. Indien meerdere experimenten met één weefselmonster kunnen worden uitgevoerd is het mogelijk om na enkele dieren te bepalen of er reeds voldoende gegevens zijn verzameld, hierbij moeten dan in ieder geval ook de juiste controles zijn meegenomen. Op basis van statistische bepalingen is het mogelijk vooraf te bepalen hoeveel metingen er gedaan moeten worden om een significant effect te kunnen meten. Het is echter niet altijd mogelijk te voorspellen hoeveel metingen per dier mogelijk zijn. Dit is afhankelijk van het aantal plakjes of cellen dat kan worden genomen uit de dieren en het succes van de experimenten.

Door tussentijds te evalueren, kan worden bepaald of er voldoende succesvolle metingen zijn gedaan, of dat er nog additionele dieren nodig zijn.

Daarnaast kunnen uit elke meting verschillende waardevolle parameters worden bepaald, waardoor geen herhalings experimenten nodig zijn voor de bepalingen van de verschillende individuele parameters.

#### 4.3 Verfijning

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

De instanties die bepalen of geneesmiddelen mogen worden toegelaten eisen dat deze ook getest zijn in levende knaagdieren en in tenminste één niet-knaagdiersoort. De testen in knaagdieren worden door ons uitgevoerd in ratten en muizen, vanwege fysiologische overeenkomsten tussen deze knaagdieren en de mens.

Daarnaast wordt er wereldwijd, mede door de genoemde eis voor het geneesmiddelenonderzoek, veel gebruik gemaakt van knaagdieren en zijn er dus vaak relevante (genetische) pathologie-modellen beschikbaar waarin het potentiële geneesmiddel kan worden getest. Een andere reden voor de keuze van deze diersoorten is gebaseerd op de praktijk dat geneesmiddelen vaak in meerdere experimenten worden getoetst op effectiviteit, werkzaamheid en distributie in het lichaam. In deze experimenten maakt men meestal gebruik van ratten en muizen. Om onze resultaten goed te kunnen vergelijken is het zinvol om de *ex-vivo* experimenten eveneens met deze diersoorten uit te voeren.

Verfijning van de experimenten vindt plaats doordat de feitelijke metingen



*ex-vivo* worden gedaan. De dieren ondervinden dus geen ongerief van de experimenten tijdens hun leven, met uitzondering van het eventueel toedienen van de experimentele stof.

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

Negatieve schadelijke gevolgen voor de dieren kunnen op twee punten ontstaan:

- 1) De experimentele stof kan niet eerder opgemerkte bijwerkingen hebben. In overleg met de verstrekker de stof, wordt op basis van ervaring uit eerdere experimenten vooraf goed in kaart gebracht welke mogelijke effecten zouden kunnen optreden. De dieren zullen na toediening door ervaren medewerkers worden geobserveerd om mogelijk ongerief tijdig waar te nemen en te voorkomen.
- 2) Een diermodel kan door symptoom ontwikkeling ongerief bij de dieren veroorzaken. Met behulp van een scorings-lijst behorend bij elk specifiek model bepalen we of er ongerief wordt ondervonden en de mate van het ongerief. Op deze manier wordt het dierenwelzijn zo optimaal mogelijk geborgd.

## 5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen



# Format DEC-advies

---

*Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de bijbehorende toelichting, waarin elke stap in het beoordelingsproces wordt toegelicht*

## A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer (Interne **5.1 lid2h** **AVD5.1 lid2h** **2016534**)
2. Titel van het project: **Ex vivo electrofysiologische weefselanalyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen**
3. Titel van de NTS: **Gebruik van weefsel en cellen voor het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen met behulp van gevoelige bio-electrische metingen**
4. Type aanvraag:
  - nieuwe aanvraag projectvergunning
  - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
  - naam DEC: **5.1 lid2h**
  - telefoonnummer contactpersoon **5.1 lid2h**
  - mailadres contactpersoon: **5.1 lid2e**
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
  - ontvangen door DEC: **03-05-2016**
  - aanvraag compleet: **03-05-2016**
  - in vergadering besproken: **12-05-2016**
  - anderszins behandeld: **03-06-2016**
  - termijnonderbreking(en) van / tot **13-05-2016 tot 15-05-2016**
  - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen **n.v.t.**
  - aanpassing aanvraag: **15-05-2016**
  - advies aan CCD: **07-06-2016**
7. Eventueel horen van aanvrager: **n.v.t.**
  - Datum
  - Plaats
  - Aantal aanwezige DEC-leden



- Aanwezige (namens) aanvrager
  - Strekking van de vraag / vragen
  - Strekking van het (de) antwoord(en)
  
  - Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag
8. Correspondentie met de aanvrager
- Datum
  - Strekking van de vraag / vragen
  - **1. verzocht werd nader te verduidelijken waarom er bij dit project drie categorieën (fundamenteel; translationeel of toegepast; wettelijk vereist) van toepassing zijn**
  - **2. de titel van het project geeft specifiek aan dat het gaat om de electrofysiologische weefselanalyse *ex vivo* ten behoeve van geneesmiddelenonderzoek. Verzocht werd in de uitwerking de voorgenomen ziektemodellen duidelijker en meer expliciet te beschrijven, zo mogelijk inclusief relevante literatuurreferenties.**
  - **3. naast genetische diermodellen wordt ook het 6-hydroxy-dopamine laesie-model genoemd voor de ziekte van Parkinson. Verzocht werd aan te geven of dat model nog opgezet en geïmplementeerd moet worden – en zo niet, wat de ervaringen zijn, ook m.b.t. het ongerief.**
  - **4. verzocht werd om nadere onderbouwing van de dieraantallen, daarbij mede betrekken de het aantal weefselslices per dier waaraan metingen gedaan kunnen worden.**
  - Datum antwoord
  - Strekking van het (de) antwoord(en)
  - **De aanvrager heeft alle vragen met grote zorgvuldigheid beantwoord en de aanvraag conform aangepast.**
  - De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag
9. 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



- Expert advies

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

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet): **ja**
2. De aanvraag betreft een **nieuwe aanvraag**
3. De DEC is competent om hierover te adviseren: **ja**
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering: **n.v.t.**

## **C. Beoordeling (inhoud):**

1. Het project is:
  - uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord
  - uit onderwijskundig oogpunt verantwoord
  - uit het oogpunt van productiedoeleinden verantwoord
  - wettelijk vereist
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en): **ja**
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een **substantieel** belang
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project: **ja**
5. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd: **n.v.t.**
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd: **ja**
7. Er zijn **geen** methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de



**vermindering** van dierproeven. **Inherent aan ex vivo onderzoek is dat doorgaans meerdere metingen aan het weefsel of orgaan (c.q. weefsels of organen) van hetzelfde dier mogelijk zijn – en dus proefdier besparend is.** Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt: **ja**

9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. **Electrofysiologie ex vivo aan weefsel of geïsoleerde cellen is een zeer verfijnde activiteit.** Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd: **ja**

## **D. Ethische afweging**

Analyse van de werking van geneesmiddelen aan de hand van electrofysiologische parameters van de celmembranen *ex vivo* – d.w.z. in weefsels/cellen van voorbehandelde dieren – is een nieuwe benadering om de *functionele* interacties van geneesmiddelen met membraan-eiwitten tijdsafhankelijk en dosisafhankelijk te bestuderen. Gebruik wordt gemaakt van (meest genetische) diermodellen van de ziekten van Alzheimer, Huntington en Parkinson, van cystische fibrose en van polycystische nierziekte. Deze **5.1 lid 2h** die een internationale reputatie heeft (vooral) op het gebied van microdialyse *in vivo* (ook in combinatie met electrofysiologische metingen) breidt hiermee het arsenaal aan technieken zodanig uit dat interpretatie tot op het niveau van individuele ion kanalen mogelijk wordt.

Het project is uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord en het is waarschijnlijk dat de doeleinden worden gehaald. De DEC oordeelt dan ook dat de schade in de vorm van lijden, pijn en angst bij de dieren wordt gerechtvaardigd door het verwachte resultaat. Zij weegt daarbij



**mee dat gezien de ernst van de aandoeningen het maatschappelijk belang om de lokale aangrijpingspunten van de werking van (nieuwe) farmaca te analyseren evident is alsmede dat vanwege het *ex vivo* karakter van de experimenten het ongerief beperkt is.**

## **E. Advies**

1. Advies aan de CCD
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen
2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op **consensus**.





### Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl) of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2600028 (1.0 ct/min).

#### 1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > <i>Vul uw deelnemernummer in</i> <span style="background-color: #cccccc; padding: 2px;">5.1 lid2h</span> <input type="checkbox"/> Nee > <i>U kunt geen aanvraag doen</i>
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie <span style="background-color: #cccccc; padding: 2px;">5.1 lid2h</span> Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde <span style="background-color: #cccccc; padding: 2px;">5.1 lid2e</span> KvK-nummer <span style="background-color: #cccccc; padding: 2px;">5.1 lid2h</span> Straat en huisnummer <span style="background-color: #cccccc; padding: 2px;">5.1 lid2h</span> <span style="float: right; background-color: #cccccc; padding: 2px;">5.1 lid2h</span> Postbus <span style="background-color: #cccccc; padding: 2px;">5.1 lid2h</span> Postcode en plaats <span style="background-color: #cccccc; padding: 2px;">5.1 lid2h</span> IBAN <span style="background-color: #cccccc; padding: 2px;">5.1 lid2h</span> Tenaamstelling van het rekeningnummer <span style="background-color: #cccccc; padding: 2px;">5.1 lid2h</span>
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>	(Titel) Naam en voorletters <span style="background-color: #cccccc; padding: 2px;">5.1 lid2e</span> <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. Functie <span style="background-color: #cccccc; padding: 2px;">5.1 lid2h</span> Afdeling <span style="background-color: #cccccc; padding: 2px;">5.1 lid2h</span> Telefoonnummer <span style="background-color: #cccccc; padding: 2px;">5.1 lid2h</span> E-mailadres <span style="background-color: #cccccc; padding: 2px;">5.1 lid2e</span>
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. (Titel) Naam en voorletters Functie Afdeling Telefoonnummer E-mailadres



- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- (Titel) Naam en voorletters  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 11 - 6 - 2016
- Einddatum 10 - 6 - 2021
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen.
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Gebruik van weefsel en cellen voor het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen met behulp van gevoelige bio-electrische metingen.
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC
- Postadres
- E-mailadres

5.1 lid2h



## 4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 935 Lege  
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.  Via een eenmalige incasso  
 Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*

## 5 Checklist bijlagen

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

## 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

5.1 lid2e

Functie

Plaats

5.1 lid2h

Datum

2 - 5 - 2016.

Handtekening

5.1 lid2e





## Format Projectvoorstel dierproeven

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

### 1 Algemene gegevens

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

### 2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.  Fundamenteel onderzoek
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*  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.

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



Aanleiding voor het huidige project zijn twee projecten die eerder door **5.1 lid2h** uitgevoerd in het kader van geneesmiddelenontwikkeling. Het betreft de ontwikkeling van een modelsysteem voor de ziekte van Huntington en het uitvoeren van *ex-vivo* elektrofysiologisch onderzoek naar cystische fibrose. Beide ziektes hebben een chronisch en progressief karakter en zijn op dit moment ongeneeslijk.

Met betrekking tot de ziekte van Huntington hebben we tot nu toe vooral *in-vivo* onderzoeken uitgevoerd met behulp van microdialyse en *in-vivo* elektrofysiologie. Deze onderzoeken hebben zowel bijgedragen aan een betere fundamentele kennis over de Q175 muis als model voor de ziekte van Huntington alsmede aan de ontwikkeling van een potentieel geneesmiddel dat op dit moment wordt voorbereid voor klinische toepassing. Het diermodel is ook een zeer geschikte kandidaat om *ex-vivo* verschillen in elektrofysiologische eigenschappen in vergelijking met *wild-type* dieren te onderzoeken, en de mogelijkheid om de eventuele verschillen te beïnvloeden met potentiële geneesmiddelen (zie ook: Heikkinen *et al.* (2012) Characterization of Neurophysiological and Behavioral Changes, MRI Brain Volumetry and <sup>1</sup>H MRS in zQ175 Knock-In Mouse Model of Huntington's Disease. PLoS ONE 7(12): e50717). Toepassing van *ex-vivo* elektrofysiologie is echter niet beperkt tot één aandoening van het centraal zenuwstelsel en ook niet tot aandoeningen van het centraal zenuwstelsel (zie bijvoorbeeld: Wang *et al.* (2015) Cognitive recovery by chronic activation of the large-conductance calcium-activated potassium channel in a mouse model of Alzheimer's disease. Neuropharmacology 92: 8-15).

Voor het cystisch fibrose onderzoek hebben we in het verleden gewerkt met een *ex-vivo* model, waarin in plakjes longweefsel het effect van een voorbehandeling met een potentieel geneesmiddel op de elektrofysiologische eigenschappen van de gecilieerde epitheel cellen zijn bepaald (volgens methode: Bourke *et al.* (2005) Development of a lung slice preparation for recording ion channel activity in alveolar epithelial type I cells. Respiratory Research 6(40)). Een verhoogde geleidbaarheid na kanaal activatie is daarbij een maat voor de expressie van additionele Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator kanaal-eiwitten in het celmembraan. De metingen werden uitgevoerd met *patch-clamp* technieken, waarbij met glazen elektrodes transmembraan potentialen (en stromen) kunnen worden gemeten met ongeëvenaarde resolutie (tot op single-channel niveau). Deze techniek, die we ook in de hier voorgestelde proeven willen toepassen kan worden gebruikt voor het bepalen van:

- Eigenschappen van actiepotentialen (amplitude, duratie, vorm)
- Synaptische potentialen en stromen (currents)
- Meten van aantallen en eigenschappen van specifieke ionkanalen
- Structurele verbindingen tussen cellen vaststellen door gebruik van stimulatie elektrodes (lange termijn potentiatie of depressie *ex-vivo*)
- Farmacologische effecten van nieuwe chemische identiteiten door competitie met bekende receptor (ant-)agonisten

De techniek kan worden toegepast op individuele cellen gewonnen uit weefsel of primaire weefselkweek (geschikt om naar eigenschappen te kijken van individuele cellen), maar ook op acuut geprepareerde weefsel plakjes, waarmee informatie over verbindingen (en de invloed van geneesmiddelen hierop) tussen neuronen kan worden bepaald. De techniek kan tevens worden ingezet om op meer fundamenteel niveau te kijken naar verschillen in geleiding of cel-connectiviteit tussen diermodellen en *wild-type* soortgenoten (of onbehandelde dieren). Deze gegevens dragen bij aan de opheldering van onderliggende fundamentele mechanismen van het ziekte proces.

**5.1 lid2h** voert contractonderzoek uit voor farmaceutische bedrijven en kennisinstututen die de ontwikkeling van potentiële nieuwe geneesmiddelen ondersteunen. De uitgevoerde onderzoeken zijn vooral (maar niet uitsluitend) gericht op ziekten van het centraal zenuwstelsel. De experimenten zijn gebaseerd op specialistische technieken zoals *in-vivo* microdialyse en elektrofysiologie en zijn erop gericht om gegevens te verzamelen over de stoffen op basis waarvan een selectie kan worden gemaakt of een stof geschikt is voor toepassing in de kliniek.

Aan ons huidige spectrum van technieken hebben wij recent de *ex-vivo* elektrofysiologie toegevoegd voor de studie in het cystisch fibrose model. Nu willen we de techniek verder uitbreiden naar andere diermodellen voor onder andere ziekten van het centraal zenuwstelsel. De techniek levert een



belangrijke bijdrage aan de vermindering en verfijning van dierproeven. De techniek is zeer geschikt om de onderliggende mechanismen van ziekteprocessen te onderzoeken en het effect van experimentele stoffen op deze mechanismen te kunnen vaststellen.

Toelating van nieuw ontwikkelde geneesmiddelen wordt gereguleerd door onder andere de FDA en de EMA. Eén van de eisen voor toelating is dat geneesmiddelen in detail worden getest op werking en veiligheid in proefdieren. De gegevens verzameld in de hier voorgestelde experimenten dragen bij aan de kennis over de werking van experimentele stoffen en kunnen bijdragen om aan deze wettelijke eis te voldoen.

### 3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

4. 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?
5. In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Doel van het project is het toepassen van *patch-clamp* technieken voor de opheldering van mechanismen die een rol spelen bij neuropsychiatrische aandoeningen zoals de ziekte van Huntington. We willen dit doen door de karakteristieken van cellen van *wild-type* dieren te vergelijken met die van cellen gewonnen uit het voorgestelde diermodel van de ziekte van Huntington. Het project voorziet tevens in de mogelijkheid om nieuwe geneesmiddelen te testen in de context van deze mechanismen. Onderzocht zal worden of de gemeten verschillen tussen *wild-type* en diermodel kunnen worden gemoduleerd en welke rol de kanaal-activiteit speelt bij deze modulatie. Metingen kunnen worden uitgevoerd op het niveau van single channels, waarbij het effect van een potentieel geneesmiddel kan worden bepaald op de geleidbaarheid van één enkel specifiek membraan-eiwit (zie bijvoorbeeld: Fischer *et al.* (2008) Activation of the CFTR Cl<sup>-</sup> channel by trimethoxyflavone *in vitro* and *in vivo*. Cell. Physiol. Biochem. 22(5-6):685-92), maar ook op de connectiviteit tussen groepen cellen (zie bijvoorbeeld: Kroker *et al.* (2013) Restoring long-term potentiation impaired by amyloid-beta oligomers: comparison of an acetylcholinesterase inhibitor and selective neuronal nicotinic receptor agonists. Brain Res. Bull. 96:28-38).

Hoewel *ex-vivo* elektrofysiologisch onderzoek niet de totale fysiologie van het proefdier reflecteert en dus geen uitspraak kan doen over werking van een experimentele stof in een intact organisme, kan het wel informatie opleveren over werkzaamheid en werkingsmechanisme van deze stof. Een belangrijk voordeel van deze techniek is dat het een aantoonbare verfijning en vermindering van aantal benodigde dieren oplevert.

De haalbaarheid van het voorgestelde project is aantoonbaar op basis van eerdere ervaringen met het cystisch fibrose project alsmede de ervaring van de betrokken onderzoekers. Eén van de onderzoekers is nauw betrokken geweest bij de opheldering van de mechanismen achter verminderde vasoconstrictie en het ontstaan van cystes in de nier bij patiënten met polycystische nierziekte (Cell (2009)139:587-596 en Cell reports (2012) 1:241-250). De andere betrokken onderzoeker heeft jarenlange ervaring met uitvoeren van *whole cell patch-clamp* in hersenplakjes. Deze onderzoeker heeft aan 5.1 lid2h gewerkt aan gepaarde *whole-cell patch clamp* metingen van neuronen in acute plakjes van de onderste olijfkern. Doel van de experimenten was het meten van de sterkte van connecties tussen de synapsen (manuscripten in voorbereiding). Bij 5.1 lid2h was deze onderzoeker verantwoordelijke voor het uitvoeren van het cystisch fibrose project.

### 3.3 Belang

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

Het voorgestelde onderzoek levert een belangrijke bijdrage aan het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen tegen neuropsychiatrische aandoeningen. Naar schatting 25% van de wereld bevolking



krijgt in zijn leven te maken met aandoeningen zoals de ziekte van Parkinson, Huntington of Alzheimer, schizofrenie, of depressie (WHO). Ongeveer de helft van de volwassenen heeft een chronische ziekte die die in veel gevallen uiteindelijk ook de oorzaak is van het overlijden (70%) (NHC). Op dit moment zijn voor deze ziekten maar beperkt geneesmiddelen beschikbaar. Het is daarom van groot belang dat nieuwe farmaca worden ontwikkeld. Elektrofysiologisch onderzoek op het niveau van weefsel of cellen is een goede screeningsmethode voor de werkzaamheid van nieuwe geneesmiddelen, die samengaat met een *high throughput* en gebruik van relatief weinig proefdieren.

### 3.4 Onderzoeksstrategie

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

Het project is erop gericht om elektrofysiologische gegevens te verzamelen van weefsel of cellen gewonnen uit proefdieren. Dieren worden gehuisvest in sociale groepen en eventueel voorbehandeld met een te onderzoeken stof (acuut of chronisch). Voordat de experimenten beginnen worden de dieren getermineerd en wordt relevant weefsel verzameld, waarmee feitelijk de dierproef is beëindigd. Het verzamelde weefsel wordt vervolgens behandeld om gebruikt te kunnen worden voor *patch clamp* studies.

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

Alle proeven zullen de volgende stappen volgen:

- 1) Aankomst dieren, huisvesting in *holding room* gevolgd door eventuele voorbehandeling met een experimentele stof of voorbereidende handelingen om een diermodel te induceren
- 2) Termineren van de individuele dieren onder anesthesie
- 3) Verzamelen van het orgaanweefsel dat onderzocht zal worden
- 4) Voorbehandeling van het weefsel voor elektrofysiologisch onderzoek, bijvoorbeeld:
  - Weefsel plakjes bereiden in *carbogeen/slicing* solution
  - Weefsel plakjes bereiden voor primaire celweek
  - Weefsel dissociatie in fysiologische oplossing
  - Weefsel dissociatie voor primaire celweek
- 5) Ex-vivo analyse van cellen / weefsel

Zoals eerder beschreven, kan met behulp van deze techniek op fundamenteel niveau onderzoek worden gedaan naar de elektrofysiologische verschillen tussen cellen gewonnen uit het dier dat een ziektemodel representeert en cellen afkomstig van *wild-type* dieren. In een vervolgstudie is het mogelijk om geconstateerde verschillen te moduleren met behulp van potentiële geneesmiddelen.

#### 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.

Naar aanleiding van door ons (of anderen) uitgevoerd *in-vivo* onderzoek is het mogelijk om met *ex-vivo* electrofysiologie:

- Mechanismen te onderzoeken die onderliggend zijn aan de bestudeerde ziektebeelden
- Verschillende moleculen te testen, die lijken op een *in-vivo* succesvolle stof, om de beste kandidaat te bepalen voor verder *in-vivo* onderzoek

Vraagstellingen van cliënten kunnen een verschillende experimentele aanpak vereisen, zowel *in-vivo*:

- de ontwikkeling van een diermodel
- specifieke aandacht voor ongerief bij genetisch gemodificeerde dieren
- de acute of chronische voorbehandeling met een experimentele stof

als *ex-vivo*:

- weefsel-plakjes
- individuele cellen
- primaire celweek
- *cell-attached* / *whole cell* / *excised patch* / *inside out patch* experimenten
- *voltage-* of *current-clamp*



De dierproeven die uitgevoerd gaan worden hebben als samenhangend thema dat weefsel uit de dieren wordt gebruikt in onderzoek naar ziektes en ziekte beelden (met nadruk op ziektes van het centraal zenuw stelsel) en de ontwikkeling van geneesmiddelen. De gebruikte techniek is zeer breed toepasbaar, aangezien metingen worden verricht aan de in de celmembraan aanwezige receptoren en kanalen. Deze variëren tussen celtypes van verschillende weefsels, maar kunnen met dezelfde techniek worden bestudeerd. Het unieke van de door ons beschreven aanpak is de commerciële toepassing van de techniek voor het onderzoeken van werkingsmechanismen, waar andere instellingen zich beperken tot screening van bindings eigenschappen van nieuwe moleculen aan receptoren.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	<i>Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen.</i>
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	





## Bijlage Beschrijving dierproeven

1. Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
2. Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
3. Meer informatie vindt u op de website [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl).
4. Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

5.1 lid2h

1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.

5.1 lid2h

1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.

Volgnummer	Type dierproef
------------	----------------

1	Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen.
---	--

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.

*Ex-vivo* elektrofysiologie biedt een uitstekende mogelijkheid om op cel en eiwit niveau mechanismen van ziektes te bestuderen, alsmede de effecten van potentiële geneesmiddelen vast te stellen. De methode voegt voor ons bedrijf een belangrijke waarde toe aan de bestaande *in-vivo* expertise. Door het combineren van gegevens uit *in-vivo* en *ex-vivo* studies worden zowel moleculaire als fysiologische aspecten meegenomen bij de bestudering van de effectiviteit en werking van potentiële nieuwe geneesmiddelen. De *ex-vivo* techniek kan in het voortraject of tijdens de opvolging van *in-vivo* studies op twee manieren een belangrijke bijdrage leveren aan het verminderen van benodigde aantallen proefdieren.

- Als de experimentele stoffen niet effectief blijken in *ex-vivo* toepassingen, dan is verder *in-vivo* onderzoek niet zinvol
- Door individuele cellen/weefsel (plakjes) te gebruiken is het mogelijk om meer gegevens per gebruikt dier te verzamelen, of meerdere stoffen te testen, dan wanneer het intacte dier zou worden gebruikt

*Ex-vivo* studies zijn ook te zien als een verfijning van het geneesmiddelen onderzoek, aangezien het ongerief voor de dieren lager is dan in *in-vivo* studies, onder meer omdat er geen post-operatieve periode is waarin ongerief kan worden ondervonden.

Bij chronische (neuropsychiatrische) aandoeningen is de elektrische activiteit van bepaalde (neuronale) cellen vaak veranderd. Het bestuderen van deze veranderingen (door een vergelijking te maken tussen *wild-type* dieren en dieren met het ziektemodel) en het testen van stoffen met de potentie om deze verandering terug te draaien is het mogelijk om nieuwe geneesmiddelen te ontwikkelen om genezing of verlichting te brengen van deze aandoeningen.



De hier beschreven proeven zijn bedoeld om niet alleen de effecten op individuele cellen te meten, maar ook van cellen in samenhang met het omringende weefsel. Deze laatste aanpak is van groot belang om de connectiviteit tussen de cellen (in de hersenen) te kunnen bestuderen (lange termijn potentiatie/depressie).

Primaire parameters die worden bepaald met behulp van cellen of weefsel dat uit de dieren wordt genomen zijn:

- 1) algemene elektrofysiologische eigenschappen (zoals de membraan rust-potentiaal, weerstand (geleidbaarheid) en de capaciteit van het celmembraan)
- 2) eigenschappen van spontane of gestimuleerde actiepotentialen (zoals frequentie en amplitude)
- 3) eigenschappen van spontane of gestimuleerde synaptische potentialen (zoals frequentie en amplitude)
- 4) transmembrane stromenstromen of zelfs stromen van individuele ion-kanalen, op basis van gedefinieerde farmacologische eigenschappen

De exacte parameters worden per experiment bepaald op basis van de vraagstelling naar het veronderstelde mechanisme van de experimentele stof. De beschreven parameters zijn standaard voor de *ex-vivo patch-clamp* techniek. Deze aanpak wordt beschouwd als de gouden standaard voor *single cell* elektrofysiologie en kan daarom worden vergeleken met een ruime hoeveelheid literatuur data.

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.

Dieren worden ontvangen in het vivarium en normaal gehuisvest (volgens EU 2010/63 richtlijnen). Afhankelijk van het toe te passen diermodel en het doel van de proef kan het nodig zijn om de dieren voor terminatie te behandelen door toediening van een experimentele stof (of vehicle). Toediening kan zowel éénmalig zijn als (sub-)chronisch.

Toedieningsroutes zijn onder andere:

- subcutaan
- intraperitoneal
- oraal (per gavage of in het dieet)
- rectaal
- intranasaal
- intraveneus
- intramusculair

Ten behoeve van bepaling van de concentratie van de te onderzoeken stof, ten tijde van het experiment, kunnen bloed monsters worden afgenomen (via een wang-vene punctie bij de muis en een staart-vene punctie bij de rat). Voor het uitnemen van weefsel ten behoeve van de elektrofysiologische experimenten wordt het dier onder diepe anesthesie gebracht en getermineerd volgens bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Het bedoelde weefsel, (meestal de hersenen) wordt zo snel mogelijk verwijderd en verder bewerkt. Indien nodig (bv om de kinetiek van een experimentele stof te kunnen bestuderen) kunnen andere weefsels worden uitgenomen.

Verdere bewerking van het weefsel kan bestaan uit:

- het maken van weefselplakjes met behulp van een precisie snijapparaat bijvoorbeeld een vibratome
- het isoleren van individuele cellen door middel van chemische of fysische dissociatie technieken

Afhankelijk van verdere toepassing wordt acute elektrofysiologie of verdere primaire cel/weefsel kweek toegepast; daartoe wordt het weefsel in een fysiologisch relevant medium opgevangen en verder bewerkt.

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

Op basis van het aantal te verwachten succesvolle metingen per verzameld weefsel van een individueel dier en een statistische (power) analyse is het mogelijk om het aantal benodigde dieren per experiment te bepalen.

Het aantal succesvolle metingen per verzameld weefsel is afhankelijk van:



- of de vraagstelling beter met cellen of met weefselplakjes kan worden beantwoord
- de tijd die nodig is voor de individuele metingen in verhouding tot de *ex-vivo* overleving van de cellen of het weefsel (de overleving is afhankelijk van de condities waaronder de cellen of het weefsel worden bewaard: kweek-medium of buffer met carbogeen; temperatuur en luchtvochtigheid)
- het aantal relevante plakjes of cellen dat per weefsel kan worden verkregen

Het aantal benodigde metingen hangt af van de verwachte variatie in de elektrofysiologische parameters van de verschillende cel/receptor subtypes. Indien een experimentele stof wordt getest zijn ook de te verwachten variatie in de response op de stof, het aantal concentraties dat nodig is en de relevante controles van invloed op het aantal benodigde dieren.

## **B. De dieren**

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

Voor deze experimenten wordt gebruik gemaakt van ratten of muizen. De keuze van diersoort en geslacht voor de individuele protocollen is mede afhankelijk van de wens van de cliënt. De cliënt onderzoekt een stof vaak parallel in verschillende studies (bijvoorbeeld naast farmacologie ook toxicologie), waarbij de kwaliteit van de resultaten optimaal is wanneer diersoort, stam en geslacht in de verschillende studies overeenkomen. De keuze van de diersoort kan ook afhankelijk zijn van de aanwezigheid van bepaalde receptor subtypes. In de meeste gevallen (meer dan 95 %, op basis van experimenten in het verleden) zal worden gewerkt met jong volwassen, mannelijke dieren. Wij zullen de mogelijkheid van gebruik van vrouwelijke dieren uitdrukkelijk meenemen in de discussie met onze cliënten. Dieren zullen in alle gevallen van gekwalificeerde fokkers worden verkregen.

Zoals aangegeven zijn de beschreven studies zowel toepasbaar om verschillen tussen een (genetische bepaald) pathologie-diermodel en de betreffende controle dieren te onderzoeken, alsmede voor het testen van potentiële geneesmiddelen in deze modellen. Voorbeelden van voor deze studies relevante diermodellen worden hieronder beschreven. Bij gebruik van een dergelijk model moet rekening worden gehouden met het potentiële intrinsieke ongerief van het model. In het geval dat er een voor ons nieuw diermodel zal worden geïntroduceerd, zal toetsing van het intrinsieke ongerief gebeuren door de IvD met ondersteuning van experts die bekend zijn met het model.

Ziekte van Parkinson: het 6-hydroxy-dopamine laesie model is een model dat wij veel hebben toegepast (Iderberg *et al.* (2015) NLX-112, a novel 5-HT1A receptor agonist for the treatment of L-DOPA-induced dyskinesia: Behavioral and neurochemical profile in rat. *Exp. Neurol.* 271:335-50). Daarnaast zijn er verschillende algemeen gebruikte genetische modellen zoals de beta-amyloïde- en de tau-overexpressie muis (bijvoorbeeld: Grueninger *et al.* (2010) Phosphorylation of Tau at S422 is enhanced by A $\beta$  in TauPS2APP triple transgenic mice. *Neurobiol. of Disease* 37: 294-306).

Ziekte van Alzheimer: hier zijn vooral genetisch gemodificeerde modellen beschikbaar. Veel gebruikte voorbeelden zijn muizen die het amyloïde (precursor) eiwit of presenilin mutaties tot expressie brengen.

Ziekte van Huntington: ook hiervoor zijn vooral genetische modellen beschikbaar. Wij hebben veel ervaring met het gebruik van de zogenaamde R6/2 muizen en de Q175 muizen. Beide soorten muizen brengen het Huntingtine eiwit tot expressie met *glutamine repeats* (zie: Menalled *et al.* (2012) Comprehensive Behavioral and Molecular Characterization of a New Knock-In Mouse Model of Huntington's Disease: zQ175. *PLOS one* 7(12): e49838)

Cystische fibrose: voor cystische fibrose wordt een genetisch *knock-out* model gebruikt van het *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* gen (zie Clarke *et al.* (1992) Defective epithelial chloride transport in a gene-targeted mouse model of cystic fibrosis. *Science* 257(5073): 1125 -8)

Polycystische nierziekte: voor polycystische nierziekte wordt een genetisch *knock-out* model gebruikt van het *transient receptor potential* kanaal subtype P-1 gen (Lantinga-van Leeuwen *et al.* (2004) Lowering of Pkd1 expression is sufficient to cause polycystic kidney disease. *Hum. Mol. Genet.* 13(24):3069-77)



**Geschatte aantallen:**

Gedurende de geldigheid van de aanvraag verwachten wij 10 studies uit te voeren waarbij een vergelijking tussen diermodel en controle (wild-type) wordt gevraagd. Deze schatting is gebaseerd op het recent uitgevoerde experiment en liggende aanvragen voor het lopende jaar. Voor dit type studie zullen, afhankelijk van de te verwachten verschillen tussen het diermodel en de controles, 6-12 dieren nodig zijn per groep (gemiddeld 9). Deze schatting is gebaseerd op een combinatie van statistische en praktische factoren:

- De tussen dier en tussen cel variatie van de te bepalen parameter
- De grootte van het gewenste meetbare effect
- Het niveau van gewenste statistische significantie (meestal  $p < 0.05$ )
- Het aantal succesvolle metingen dat per dier mogelijk is:

Dikte van de slices waarmee gewerkt wordt is 250-300  $\mu\text{m}$ , doorsnede van hersengebieden in de muis is 1-2 mm. Dit betekent dat er 3 tot 8 slices uit één dier kunnen worden verkregen, waarbij de slices aan de randen van het hersengebied niet bruikbaar zijn. In de praktijk zullen er 2-4 slices geschikt zijn. Een tweede beperkende factor is de houdbaarheid van de slices, deze is 1 tot 2 dagen. In de praktijk kunnen in die tijd 1-2 succesvolle metingen worden. In een enkel geval lukt het om meerdere metingen te doen, wanneer dit mogelijk is, kan het aantal dieren voor de proef worden vermindert op basis van een tussentijdse evaluatie (zie ook onder vervanging, vermindering en verfijning).

Voorafgaande aan de experimenten zal, waar mogelijk, op basis van beschikbare informatie een poweranalyse worden uitgevoerd om het exacte aantal dieren te bepalen.

Wanneer het gaat om een model met progressieve symptomen kan het nodig zijn dieren op verschillende (3 tot 4) leeftijden in te zetten; dit zal naar schatting in de helft van de gevallen zo zijn.

**Totaal:**

- 1) 5 studies met 9 controle en 9 "diermodel" dieren; één leeftijd: totaal  $5 \times (9+9) = 90$  dieren.
- 2) 5 studies waarbij 9 + 9 dieren per leeftijd categorie nodig zijn; 3 leeftijden:  $5 \times (9+9) \times 3 = 270$  dieren.

Totaal voor elektrofysiologische diermodel karakterisering:  $90 + 270 = 360$  dieren.

Voor het testen van nieuwe geneesmiddelen in gekarakteriseerde modellen verwachten we maximaal 5 experimenten uit te voeren. Uitgaande van 2 doseringen, een positieve en een negatieve controle zouden er  $5 \times (2+1+1) = 20$  experimentele groepen nodig zijn voor het diermodel en eventueel 20 groepen voor de controle dieren (wild-type). Wederom zal het aantal benodigde dieren liggen tussen de 6-12 dieren (gemiddeld 9) afhankelijk van de variatie in het te verwachten effect.  $20 + 20$  groepen van 9 dieren zijn 360 dieren.

In totaal verwachten we in de komende 5 jaar 720 dieren nodig te hebben

**C. Hergebruik**

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

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

Nee

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

**D. Vervanging, vermindering en verfijning**

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

Vervanging van deze experimenten is in beperkte mate mogelijk door gebruik te maken van cel-lijnen van



cellen die de betrokken receptoren tot expressie brengen. Echter, wanneer het aankomt op het bestuderen van interacties tussen cellen in neuronale netwerken of de effecten van progressieve ziektebeelden, waarbij de expressie van bepaalde pathogene eiwitten (bijvoorbeeld een polyQ Huntingtine eiwit dat plaques vormt) een rol spelen is het niet mogelijk om dit in een volledig *in-vitro* model na te bootsen. In een dergelijk geval is toepassing van een *ex-vivo* model, waarin de neuronale connecties of het ziektebeeld zich hebben kunnen ontwikkelen, van groot belang.

Vermindering van aantallen dieren in deze experimenten is mogelijk wanneer meerdere cellen of weefselplakjes (met relevante celtypes) kunnen worden geïsoleerd uit één dier en waarbij deze vervolgens lang genoeg in een goede conditie kunnen worden gehouden voor het uitvoeren van de diverse metingen. Door tussentijdse evaluatie van de meetgegevens kan het mogelijk zijn dat minder dieren nodig zijn dan vooraf werd verwacht op basis van de statistische (power-)analyse en het geschatte aantal metingen per dier. Wanneer er wordt gekeken naar één specifiek onderdeel van de pathofysiologie, wordt er een reductie in de variatie verwacht, waardoor statistisch relevante resultaten sneller kunnen worden bereikt. Daarnaast is het mogelijk om in één cel meerdere karakteristieken te bepalen (bijvoorbeeld rust-potentiaal, capaciteit en (geïnduceerde) vuurfrequentie).

*Ex-vivo* uitvoeren van de experimenten is impliciet een verfijning van de experimenten, aangezien de dieren van het verzamelen van de gegevens zelf geen negatieve gevolgen meer ondervinden. Wel kan er minimaal ongerief ontstaan ten gevolge van een eventuele toediening tijdens de voorbehandeling. Verfijning van de experimenten is mogelijk door een optimaal experimenteel protocol toe te passen waarbij de onderzoeker blind is voor de groep waaraan experimenten worden verricht (diermodel dan wel controle groep). Dit betekent dat een tweede persoon de gegevens uitwerkt om tevens te bepalen of er voldoende gegevens per groep beschikbaar zijn. Het *Ex-vivo* onderzoek van de experimentele stof verlaagt het risico op onnodige *in-vivo* testen van niet-actieve stoffen.

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.

Kans op pijn, leiden en angst wordt geminimaliseerd doordat de dieren minimaal één maal per dag (twee maal op werkdagen) worden gecontroleerd. Hierbij wordt gekeken naar:

- algemeen welbevinden
- gewicht van het dier
- algemene uiterlijke kenmerken duidend op ongerief (pijn, lijden of angst)

Wanneer gewerkt wordt met diermodellen met bekend intrinsiek ongerief, wordt extra aandacht besteed aan symptomen behorend bij het diermodel. Na eventuele toediening van een experimentele stof worden de dieren geobserveerd voor mogelijke negatieve effecten op het welzijn.

Milieueffecten zijn niet van toepassing.

## 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.

Cliënten die ons vragen de experimenten uit te voeren doen dit 1) vanwege onze expertise en 2) omdat de mogelijkheden om binnen de eigen instelling deze experimenten uit te voeren niet aanwezig zijn. Dit betekent dat deze experimenten vaak voor het eerst door ons worden uitgevoerd. De experimentele stoffen die worden onderzocht zijn dikwijls door de cliënt ontwikkeld en niet eerder met de bovengenoemde methoden onderzocht. Goede kennis van de literatuur en netwerken met toponderzoekers in het veld minimaliseren de kans op duplicaat experimenten. In bepaalde gevallen is echter ter validatie van een model of testmethode juist wel replicatie van eerder gepubliceerd werk nodig.

## 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.

#### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Welzijn kan worden aangetast:

- bij gebruik van diermodellen is het van belang om rekening te houden met model-specifieke aantasting van het welzijn (bijvoorbeeld (maar niet uitsluitend) het ontstaan van gezwellen in oudere dieren
- onverwachte effecten van de experimentele stof die nog niet eerder zijn geobserveerd in eerdere experimenten

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

- specifiek ongerief van een diermodel van de bestudeerde ziekte heeft meestal te maken met symptomen die ook bij patiënten met deze ziekte worden waargenomen en kunnen verergeren naarmate de dieren ouder worden.
- oorzaak voor het onbekend zijn van mogelijke bijwerkingen is dat de stoffen (en/of toedieningsmethode) die getest zullen worden over het algemeen niet uitgebreid zijn toegepast in mens of dier. Daarmee is het vaak niet mogelijk alle verschillende bijwerkingen te kennen. Indien een stof ernstige bijwerkingen vertoont in studies wordt deze uiteraard niet toegelaten tot verdere testen en worden klinische toepassingen irrelevant.

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

- de noodzaak van inzet van pathologische diermodellen wordt vooraf in detail met de cliënt besproken. Het gedrag van de dieren wordt voor en tijdens experimenten geobserveerd om



vroegtijdig te kunnen ingrijpen bij ongerief.

- waar mogelijk maken we gebruik van model specifieke ongerief scoring lijsten, of zetten we deze op in overleg met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- bij de cliënt wordt altijd navraag gedaan naar resultaten van in-vitro en in-vivo studies waarbij de stof in vergelijkbare concentraties is toegediend.

#### 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.

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

#### 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.

De experimenten zelf zijn in principe terminaal. Toediening van de experimentele stof voor termineren is in principe licht ongerief voor de dieren. Wanneer diermodellen met intrinsiek ongerief worden ingezet zal het ongerief matig worden.

### Einde experiment

#### L. Wijze van doden

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

Nee

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

Voor deze experimenten is het essentieel dat weefsel wordt uitgenomen. In veel gevallen betekent dit dat volledige organen verwijderd moeten worden, wat onverenigbaar is met het verder leven van de dieren. Zij worden derhalve onder anesthesie geëuthanaseerd.

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

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja





## Format

### Niet-technische samenvatting

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

### 1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Gebruik van weefsel en cellen voor het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen met behulp van gevoelige bio-elektrische metingen.
1.2 Looptijd van het project	5 jaar
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	Ex-vivo, patch-clamp, geneesmiddelen ontwikkeling, mechanisme pathologisch model

### 2 Categorie van het project

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

### 3 Projectbeschrijving

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	<p>Alle cellen in het lichaam beschikken over karakteristieke elektrische eigenschappen. Deze eigenschappen kunnen veranderen wanneer ziekteprocessen optreden. Vooral in het centraal zenuwstelsel is de elektrische communicatie tussen cellen van zeer groot belang voor het optimaal functioneren van tal van fysiologische processen. De communicatie is te meten met behulp van elektrofysiologie. Bij deze techniek wordt in weefsel of cellen een kleine (&lt; dan 1 micrometer in diameter) glazen electrode ingebracht, waarmee specifieke elektrische signalen kunnen worden gemeten van individuele eiwitten, maar ook tussen verschillende cellen.</p> <p>Dit project heeft twee doelstellingen:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1) Het bestuderen van mogelijke afwijkingen van de elektrische</li></ol>
---	--



	<p>eigenschappen en connectiviteit van cellen die afkomstig zijn uit een diermodel van een bepaald ziektebeeld. Deze verschillen leveren belangrijke informatie op over het verloop en de oorzaak van de betreffende ziekte.</p> <p>2) Het testen van stoffen die de gevolgen van de ziekte op de elektrische eigenschappen verminderen of wegnemen. Indien succesvol, zijn deze stoffen veelbelovende kandidaten voor verdere ontwikkeling in de kliniek.</p>
3.2	<p>Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?</p> <p>Het project levert kennis op over pathologische mechanismen die ten grondslag liggen aan progressieve en uiteindelijk dodelijke aandoeningen van het centrale zenuwstelsel zoals de ziektes van Alzheimer, Parkinson en Huntington. Met dezelfde techniek kunnen ook niet-neuronale ziekten zoals cystische fibrose worden onderzocht. De techniek maakt het bovendien mogelijk om stoffen te testen die de gevonden afwijkingen kunnen verminderen en derhalve kandidaat zijn als geneesmiddel om de ziekte of ziekte verschijnselen te bestrijden.</p>
3.3	<p>Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?</p> <p>Voor dit onderzoek zullen ratten en muizen worden gebruikt. In totaal verwachten we 720 dieren te zullen gebruiken over een periode van 5 jaar.</p>
3.4	<p>Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?</p> <p>Voor het uitvoeren van deze experimenten is het noodzakelijk vers weefsel of cellen te gebruiken. Dit houdt in dat er dieren worden geëuthanaseerd om vervolgens weefselplakjes en/of cellen te verzamelen. Hoe sneller dit proces plaatstvindt, des te beter zullen de elektrische eigenschappen van cellen en/of weefsel bewaard blijven. In enkele gevallen zullen de dieren vooraf een acute of chronische behandeling met een potentieel geneesmiddel ondergaan, zodat we kunnen aantonen dat de stof effect heeft in het gehele dier (in vergelijking met onbehandelde dieren). Binnen de doelstelling van de experimenten valt ook onderzoek gericht op de gevolgen van ziekten op cel- of zelfs eiwit-niveau. Dit betekent dat in sommige gevallen gebruikt moet worden gemaakt van diermodellen die symptomen kunnen vertonen van de te bestuderen ziekte. Deze symptomen kunnen bij individuele dieren leiden tot matig ongerief op basis van het toegepaste diermodel.</p>
3.5	<p>Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?</p> <p>Het verzamelen van de gegevens voor deze experimenten vindt plaats als het dier reeds is getermineerd, zonder voorbehandeling of toepassing van een diermodel zijn de experimenten daarom terminaal. Behandeling voor terminatie met een potentieel geneesmiddel kan mogelijk extra ongerief veroorzaken, in dit geval is het ongerief voor de dieren licht. Wanneer een diermodel van een ziektebeeld wordt toegepast, waarbij symptomen tot uiting komen kan het ongerief hierdoor oplopen tot matig.</p>
3.6	<p>Wat is de bestemming van de dieren na afloop?</p> <p>Voor de experimenten die wij willen uitvoeren moeten volledige organen worden verwijderd, dit heeft tot gevolg dat het dier niet in leven kan worden gehouden. Het dier wordt derhalve onder anesthesie geëuthanaseerd.</p>

#### 4 Drie V's

4.1	<p><b>Vervanging</b> Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom</p> <p>De aangevraagde proeven zijn bedoeld om effecten (van ziekte of geneesmiddelen) op individuele cellen of cellen in samenhang met omringend weefsel te meten. Deze laatste aanpak is van groot belang om connectiviteit tussen cellen (in de hersenen) te kunnen bestuderen.</p>
-----	---



proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

Voor een zeer klein deel zouden deze experimenten te vervangen zijn door gebruik te maken van gekweekte cellen. Een dergelijk model geeft echter alleen informatie over de werking van een experimentele stof op een specifiek eiwit in de cel. Hoewel dit belangrijke informatie is om verder te kunnen gaan met de ontwikkeling van een potentieel geneesmiddel, is het niet voldoende om te weten of de betreffende stof ook op het ziekteproces (pathologiesche context) effect heeft. Het ontwikkelen van symptomen en de onderliggende oorzaken zijn vaak multifactorieel en daardoor moeilijk na te bootsen in een systeem waarin één enkel eiwit kan worden bestudeerd. Het is daarom essentieel dat stoffen getest kunnen worden op cellen of weefsels die uit een levend organisme afkomstig zijn. Humaan weefsel is voor dergelijk onderzoek maar heel beperkt beschikbaar (zeker wanneer het gaat om aandoeningen van de hersenen, daarom is het gebruik van proefdieren noodzakelijk.

Een tweede beperking van gekweekte cellen is dat ze zelden de organisatie aannemen die vergelijkbaar is met *in-vivo* weefsels. Het is dus moeilijk om in gekweekte cellen connectiviteit tussen cellen goed te bestuderen.

#### 4.2 Vermindering

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

In enkele gevallen is het mogelijk om meerdere metingen in het verzameld weefsel van een individueel proefdier te doen, dit in tegenstelling tot *in-vivo* experimenten waar per dier maar één elektrofysiologisch experiment kan worden uitgevoerd. Dit levert al een duidelijke besparing op van het aantal benodigde dieren. Indien meerdere experimenten met één weefselmonster kunnen worden uitgevoerd is het mogelijk om na enkele dieren te bepalen of er reeds voldoende gegevens zijn verzameld, hierbij moeten dan in ieder geval ook de juiste controles zijn meegenomen. Op basis van statistische bepalingen is het mogelijk vooraf te bepalen hoeveel metingen er gedaan moeten worden om een significant effect te kunnen meten. Het is echter niet altijd mogelijk te voorspellen hoeveel metingen per dier mogelijk zijn. Dit is afhankelijk van het aantal plakjes of cellen dat kan worden genomen uit de dieren en het succes van de experimenten. Door tussentijds te evalueren, kan worden bepaald of er voldoende succesvolle metingen zijn gedaan, of dat er nog additionele dieren nodig zijn.

Daarnaast kunnen uit elke meting verschillende waardevolle parameters worden bepaald, waardoor geen herhalings experimenten nodig zijn voor de bepalingen van de verschillende individuele parameters.

#### 4.3 Verfijning

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

De instanties die bepalen of geneesmiddelen mogen worden toegelaten eisen dat deze ook getest zijn in levende knaagdieren en in tenminste één niet-knaagdier. De testen in knaagdieren worden door ons uitgevoerd in ratten en muizen, vanwege fysiologische overeenkomsten tussen deze knaagdieren en de mens.

Daarnaast wordt er wereldwijd, mede door de genoemde eis voor het geneesmiddelenonderzoek, veel gebruik gemaakt van knaagdieren en zijn er dus vaak relevante (genetische) pathologie-modellen beschikbaar waarin het potentiële geneesmiddel kan worden getest. Een andere reden voor de keuze van deze diersoorten is gebaseerd op de praktijk dat geneesmiddelen vaak in meerdere experimenten worden getoetst op effectiviteit, werkzaamheid en distributie in het lichaam. In deze experimenten maakt men meestal gebruik van ratten en muizen. Om onze resultaten goed te kunnen vergelijken is het zinvol om de *ex-vivo* experimenten eveneens met deze diersoorten uit te voeren.

Verfijning van de experimenten vindt plaats doordat de feitelijke metingen



*ex-vivo* worden gedaan. De dieren ondervinden dus geen ongerief van de experimenten tijdens hun leven, met uitzondering van het eventueel toedienen van de experimentele stof.

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

Negatieve schadelijke gevolgen voor de dieren kunnen op twee punten ontstaan:

- 1) De experimentele stof kan niet eerder opgemerkte bijwerkingen hebben. In overleg met de verstrekker de stof, wordt op basis van ervaring uit eerdere experimenten vooraf goed in kaart gebracht welke mogelijke effecten zouden kunnen optreden. De dieren zullen na toediening door ervaren medewerkers worden geobserveerd om mogelijk ongerief tijdig waar te nemen en te voorkomen.
- 2) Een diermodel kan door symptoomontwikkeling ongerief bij de dieren veroorzaken. Met behulp van een scoringslijst behorend bij elk specifiek model bepalen we of er ongerief wordt ondervonden en de mate van het ongerief. Op deze manier wordt het dierenwelzijn zo optimaal mogelijk geborgd.

## 5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen



12

Van: 5.1 lid2e  
Aan: Info 5.1 lid2e  
Onderwerp: RE: Aanvulling AVC 5.1 lid2e 2016534  
Datum: dinsdag 14 juni 2016 21:58:56  
Bijlagen: image001.gif

Geachte 5.1 lid2e,

Dank voor uw vragen naar aanleiding van onze aanvraag.

Het is voor ons helaas niet mogelijk exact aan te geven hoeveel ratten of muizen we gaan gebruiken in de beschreven studies. Dit heeft te maken met het feit dat wij contract onderzoek doen en afhankelijk zijn van de vraagstelling van de klant. Op basis van experimenten uit het verleden en de vraagstellingen die wij momenteel hebben liggen van onze klanten is het te verwachten dat het grootste deel van de studies in muizen plaats zal gaan vinden (de meeste dier-modellen zijn gebaseerd op muizen). Van de vijftien studies (5 voor dieren op 1 leeftijd, 5 voor de dieren op 3 leeftijden en 5 studies met test-stoffen) zullen er naar verwachting steeds vier (in totaal 12) worden uitgevoerd in muizen.

Aangaande het te verwachten ongerief kan ik het volgende melden. De dieren in de experimenten waar we verschillende genotypes en leeftijden met elkaar gaan vergelijken zijn allen te classificeren als terminaal. Waarbij voor individuele dieren uit bepaalde diermodellen matig ongerief zou kunnen voorkomen op basis van de symptomen van het diermodel. De verwachting is dat dit minder dan bij 10% van de dieren zal zijn (minder dan 5% van het totaal aantal).

Voor het testen van de geneesmiddelen zal een deel van de stoffen (naar schatting 40% (20% van het totaal aantal)) ex-vivo kunnen worden getest. Voor deze stoffen en dieren zijn de experimenten dus terminaal. De rest van de dieren zal tijdens de in-vivo fase nog moeten worden behandeld met de test-stof. Deze dieren zullen licht ongerief ondervinden door het toedienen van de teststof. Net als bij de karakterisatie experimenten zou bij individuele dieren matig ongerief kunnen optreden.

Alles bij elkaar zullen naar schatting 60% van de experimenten terminaal zijn; zullen naar schatting 30% van de dieren licht ongerief ondervinden en minder dan 10% matig ongerief voortkomend uit de aard van het diermodel. Het kan zijn dat we op basis van de vragen van onze klanten gaan afwijken van de verwachte percentages. Deze afwijking zou dan te maken hebben met het intrinsieke ongerief bij de individuele dieren van de toegepaste diermodellen.

Mochten er naar aanleiding van de aanvraag nog verdere vragen zijn, ben ik uiteraard bereid deze nog verder toe te lichten.

Met vriendelijke groeten,

5.1 lid2e, 5.1 lid2h

From: Info-zbo [mailto:info@zbo-ccd.nl]

Sent: 14 June 2016 15:32

To: 5.1 lid2e

Cc: 5.1 lid2e

Subject: Aanvulling AVC 5.1 lid2e 2016534

Geachte meneer, mevrouw,

Op 2 mei 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen met aanvraagnummer AVC 5.1 lid2e 2016534. In uw aanvraag ztten voor ons nog enkele onduidelijkheden.

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

Kunt u aangeven hoeveel van de 720 dieren muizen zullen zijn en hoeveel ratten?

Kunt u aangeven hoeveel procent van de dieren licht ongerief zullen ondergaan en hoeveel procent terminaal?

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

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze e-mail op. Dat kan per e-mail. Als u de informatie deze week aanlevert, kan uw aanvraag de komende vergadering behandeld worden.

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

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Met vriendelijke groeten,

5.1 lid2e

Centrale Commissie Dierproeven

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

Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

T: 0900 - 28 000 28 (10 ct/min)

E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)

11





> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

5.1 lid2h

5.1 lid2a

5.1 lid2h



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

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD **5.1 lid2a** 2016534

**Datum** 14 juni 2016  
**Betreft** aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Geachte** **5.1 lid2e**

Op 2 mei 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen met aanvraagnummer AVD **5.1 lid2a** 2016534. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

#### **Welke informatie nog nodig**

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

Kunt u aangeven hoeveel van de 720 dieren muizen zullen zijn en hoeveel ratten?

Kunt u aangeven hoeveel procent van de dieren licht ongerief zullen ondergaan?

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

#### **Opsturen binnen veertien dagen**

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Stuur u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt.

#### **Wanneer een beslissing**

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



**Meer informatie**

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven



## Melding bijlagen

U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen?

Voeg altijd deze Melding Bijlagen toe.

Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt.

Meer informatie vindt u op [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

Of bel met ons: 0900 28 000 28 (10 ct/min).

### 1 Uw Gegevens

Naam instelling:

5.1 lid2h

Adres:

.....

Postcode en plaats:

.....

Aanvraagnummer:

AVD 5.1 lid2h 2016534

### 2 Bijlagen

Welke bijlagen stuurt u mee?

Vink de bijlagen aan of vul de naam of omschrijving in.

Projectvoorstel

Beschrijving Dierproeven

Niet-technische samenvatting

Melding Machtiging

Aanvraagformulier

.....



O .....

O .....

**3 Ondertekening**

Naam: .....

Datum: ..... - ..... - .....

Handtekening: .....

Onderteken het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:  
Centrale Commissie Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag





Datum 14-06-2016  
Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven  
AVD2016534

## Advies aan CCD

Instelling: 5.1 lid2h  
Onderzoeker: 5.1 lid2e  
Project: Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen  
Aanvraagnummer: AVD2016534  
Betreft: Nieuwe aanvraag  
Categoriën: Fundamenteel onderzoek  
Translatieel of toegepast onderzoek  
Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie

### Samenvatting





Het projectvoorstel bevat <sup>1</sup> voldoende informatie over het belang van het onderzoek, de strategie, de 3V's, het ongerief en de <sup>2</sup> humane eindpunten om tot een oordeel te kunnen komen.

De aanvrager geeft aan oog te hebben voor <sup>3</sup> gebruik van beide geslachten, maar dat waarschijnlijk het overgrote merendeel mannelijke dieren zullen zijn. Dit is volgens het secretariaat <sup>4</sup> voldoende onderbouwd.




# Overzicht van opmerkingen bij 12. AdviesNotaCCD 5.1 lid2e.pdf

Pagina: 1

- 
- |   |   |                      |                           |
|---|---|----------------------|---------------------------|
|  Nummer: 1 | Auteur: <span style="background-color: #cccccc; color: red; padding: 2px;">5.1 lid2e</span> | Onderwerp: Markering | Datum: 15-6-2016 11:18:18 |
|---|---|----------------------|---------------------------|
- vindt je dat?? ik heb nog wel een paar vragen...
- 
- |   |   |                      |                           |
|---|---|----------------------|---------------------------|
|  Nummer: 2 | Auteur: <span style="background-color: #cccccc; color: red; padding: 2px;">5.1 lid2e</span> | Onderwerp: Markering | Datum: 15-6-2016 11:18:39 |
|---|---|----------------------|---------------------------|
- worden niet verwacht toch??
- 
- |   |   |                    |                           |
|---|---|--------------------|---------------------------|
|  Nummer: 3 | Auteur: <span style="background-color: #cccccc; color: red; padding: 2px;">5.1 lid2e</span> | Onderwerp: Notitie | Datum: 15-6-2016 11:16:33 |
|---|---|--------------------|---------------------------|
- Zou deze zin omdraaien, nu lijkt het jammer de bammer. dus: In dit project worden voornamelijk mannelijk dieren ingezet. Hoewel de aanvrager aangeeft oog te hebben voor het gebruik van beide geslachten wordt voor dit voorliggende projectvoorstel beargumenteerd dat dit niet mogelijk is omdat bla, bla.
- 
- |   |   |                      |                           |
|---|---|----------------------|---------------------------|
|  Nummer: 4 | Auteur: <span style="background-color: #cccccc; color: red; padding: 2px;">5.1 lid2e</span> | Onderwerp: Markering | Datum: 15-6-2016 11:17:43 |
|---|---|----------------------|---------------------------|
- Ik vind dat ze op geen enkele manier onderbouwen waarom ze mannelijke dieren moeten gebruiken, Er wordt alleen gezegd dat de klant dat uitmaakt. Zou hier dus zeker weglaten dat het secretariaat dat voldoende onderbouwd vindt.



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

<b>Proces</b>	<p>Er is een DEC advies opgevraagd bij de door de aanvrager gevraagde DEC </p> <p>De aanvrager is gevraagd het aantal dieren uit te splitsen naar aantal muizen en aantal ratten. Ook is gevraagd aan te geven hoeveel procent van de dieren licht en hoeveel terminaal ongerief zullen ondergaan.</p> <p>Er is extern advies ingewonnen bij - de aanvrager is om aanvullingen gevraagd</p>			
<b>Naam proef</b>	<b>Diersoort</b>	<b>Stam</b>	<b>Aantal dieren</b>	<b>Herkomst</b>
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	Muizen ( <i>Mus musculus</i> )		720	Dieren die (in de instelling) gefokt zijn

Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen: De keuze van diersoort en geslacht voor de individuele protocollen is mede afhankelijk van de wens van de cliënt. De cliënt onderzoekt een stof vaak parallel in verschillende studies (bijvoorbeeld naast farmacologie ook toxicologie), waarbij de kwaliteit van de resultaten optimaal is wanneer diersoort, stam en geslacht in de verschillende studies overeenkomen. De keuze van de diersoort kan ook afhankelijk zijn van de aanwezigheid van bepaalde receptor subtypes. In de meeste gevallen (meer dan 95 %, op basis van experimenten in het verleden) zal worden gewerkt met jong volwassen, mannelijke dieren. Wij zullen de mogelijkheid van gebruik van vrouwelijke dieren uitdrukkelijk meenemen in de discussie met onze cliënten.

<b>Locatie uitvoering experimenten</b>	<p>- Alle proeven vinden plaats in een instelling van een vergunninghouder.</p> <p>- Er zijn geen problemen bekend met de vergunninghouder.</p>
<b>Maatschappij</b>	Er wordt niet verwacht dat het onderwerp in die mate politiek of maatschappelijk gevoelig is, dat eventuele extra communicatie uitingen nodig zijn.



---

Nummer: 1      Auteur: S. J. M. D. O.      Onderwerp: Notitie Datum: 15-6-2016 11:02:52

kijk even naar het tekstje dat ik bij [REDACTED] heb gebruikt hiervoor. Dat vind ik zelf duidelijker :-) Kan me voorstellen dat we er niet veel woorden meer aan wijden wanneer alle DEC advies door ons worden opgevraagd, maar zolang dat nog uitzondering is en de CCD nog moet besluiten hoe het verder gaat zou ik er wat meer tekst aan besteden



## 2 DEC advies

[Faint, illegible text block containing the main body of the document, likely a report or advisory text.]



<p><b>DEC-advies</b></p>	<p>Citaten: Inherent aan ex vivo onderzoek is dat doorgaans meerdere metingen aan het weefsel of orgaan (c.q. weefsels of organen) van hetzelfde dier mogelijk zijn – en dus proefdier besparend is. Electrofysiologie ex vivo aan weefsel of geïsoleerde cellen is een zeer verfijnde activiteit.</p> <p>Ethische afweging van de DEC:  Citaat: Analyse van de werking van geneesmiddelen aan de hand van electrofysiologische parameters van de celmembraan ex vivo – d.w.z. in weefsels/cellen van voorbehandelde dieren – is een nieuwe benadering om de functionele interacties van geneesmiddelen met membraan-eiwitten tijdsafhankelijk en dosisafhankelijk te bestuderen. Gebruik wordt gemaakt van (meest genetische) diermodellen van de ziekten van Alzheimer, Huntington en Parkinson, van cystische fibrose en van polycystische nierziekte. Deze <span style="background-color: red; color: white; padding: 0 2px;">10423</span> die een internationale reputatie heeft (vooral) op het gebied van analyse in vivo (ook in combinatie met electrofysiologische metingen) breidt hiermee het arsenaal aan technieken zodanig uit dat interpretatie tot op het niveau van individuele ion kanalen mogelijk wordt.</p> <p>Het project is uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord en het is waarschijnlijk dat de doeleinden worden gehaald. De DEC oordeelt dan ook dat de schade in de vorm van lijden, pijn en angst bij de dieren wordt gerechtvaardigd door het verwachte resultaat. Zij weegt daarbij mee dat gezien de ernst van de aandoeningen het maatschappelijk belang om de lokale aangrijpingspunten van de werking van (nieuwe) farmaca te analyseren evident is alsmede dat vanwege het ex vivo karakter van de experimenten het ongerief beperkt is.</p> <p>De DEC heeft extern advies ingewonnen bij  - de aanvrager is om aanvullingen gevraagd  De strekking van de vragen aan de aanvrager: uitleg waarom er drie categorieën van toepassing zijn; ziektemodellen beter beschrijven; het te gebruiken model voor de ziekte van Parkinson; onderbouwing van dieraantallen. De aanvrager heeft alle vragen met grote zorgvuldigheid beantwoord en de aanvraag conform aangepast.</p> <p>Het DEC advies is Positief</p> <p>Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.</p> <p>Het Secretariaat volgt het DEC-advies.</p>
--------------------------	--



### 3 Kwaliteit DEC advies

<b>Kwaliteit DEC-advies</b>	Het DEC-advies is volledig.
	Er is geen gebruik gemaakt van het verschoningsrecht.  De DEC is voldoende onafhankelijk volgens het Secretariaat.
Het DEC advies is zeer summier.	

### 4 Inhoudelijke beoordeling

<b>Belangen- verstrengeling</b>	Geen van de medewerkers van het Secretariaat heeft een arbeidsrelatie gehad met de aanvrager die minder dan 5 jaar geleden is beëindigd of heeft andere belangen die mogelijk zouden kunnen leiden tot oneigenlijke beïnvloeding.
<b>Doelstelling</b> Doelstelling	<p>Citaat: Doel van het project is het toepassen van patch-clamp technieken voor de opheldering van mechanismen die een rol spelen bij neuropsychiatrische aandoeningen zoals de ziekte van Huntington. We willen dit doen door de karakteristieken van cellen van wild-type dieren te vergelijken met die van cellen gewonnen uit het voorgestelde diermodel van de ziekte van Huntington. Het project voorziet tevens in de mogelijkheid om nieuwe geneesmiddelen te testen in de context van deze mechanismen. Onderzocht zal worden of de gemeten verschillen tussen wild-type en diermodel kunnen worden gemoduleerd en welke rol de kanaal-activiteit speelt bij deze modulatie. Metingen kunnen worden uitgevoerd op het niveau van single channels, waarbij het effect van een potentieel geneesmiddel kan worden bepaald op de geleidbaarheid van één enkel specifiek membraan-eiwit (zie bijvoorbeeld: Fischer et al. (2008) Activation of the CFTR Cl<sup>-</sup> channel by trimethoxyflavone in vitro and in vivo. Cell. Physiol. Biochem. 22(5-6):685-92), maar ook op de connectiviteit tussen groepen cellen (zie bijvoorbeeld: Kroker et al. (2013) Restoring long-term potentiation impaired by amyloid-beta oligomers: comparison of an acetylcholinesterase inhibitor and selective neuronal nicotinic receptor agonists. Brain Res. Bull. 96:28-38).</p> <p>De aanvrager geeft aan (citaat): Hoewel ex-vivo elektrofysiologisch onderzoek niet de totale fysiologie van het proefdier reflecteert en dus geen uitspraak kan doen over werking van een experimentele stof in een intact organisme, kan het wel informatie opleveren over werkzaamheid en werkingsmechanisme van deze stof. Een belangrijk voordeel van deze techniek is dat het een aantoonbare verfijning en vermindering van aantal benodigde dieren oplevert.</p>



Wetenschappelijk en maatschappelijk belang	Citaat: Het voorgestelde onderzoek levert een belangrijke bijdrage aan het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen tegen neuropsychiatrische aandoeningen. Naar schatting 25% van de wereld bevolking krijgt in zijn leven te maken met aandoeningen zoals de ziekte van Parkinson, Huntington of Alzheimer, schizofrenie, of depressie (WHO). Ongeveer de helft van de volwassenen heeft een chronische ziekte die die in veel gevallen uiteindelijk ook de oorzaak is van het overlijden (70%) (NHC). Op dit moment zijn voor deze ziekten maar beperkt geneesmiddelen beschikbaar. Het is daarom van groot belang dat nieuwe farmaca worden ontwikkeld. Elektrofysiologisch onderzoek op het niveau van weefsel of cellen is een goede screeningsmethode voor de werkzaamheid van nieuwe geneesmiddelen, die samengaat met een high throughput en gebruik van relatief weinig proefdieren.
Onderbouwing wetenschappelijk en maatschappelijk belang	Het belang is voldoende uitgewerkt.
<b>Wetenschappelijke kwaliteit</b> Kwaliteit aanvragers en onderzoek	Het secretariaat heeft geen reden te twijfelen aan de kwaliteit van de aanvragers en het onderzoek.
<b>3V's</b> Vervangen	Citaat: Vervanging van deze experimenten is in beperkte mate mogelijk door gebruik te maken van cel-lijnen van cellen die de betrokken receptoren tot expressie brengen. Echter, wanneer het aankomt op het bestuderen van interacties tussen cellen in neuronale netwerken of de effecten van progressieve ziektebeelden, waarbij de expressie van bepaalde pathogene eiwitten (bijvoorbeeld een polyQ Huntingtine eiwit dat plaques vormt) een rol spelen is het niet mogelijk om dit in een volledig in-vitro model na te bootsen. In een dergelijk geval is toepassing van een ex-vivo model, waarin de neuronale connecties of het ziektebeeld zich hebben kunnen ontwikkelen, van groot belang.
Verminderen	Citaat: Vermindering van aantallen dieren in deze experimenten is mogelijk wanneer meerdere cellen of weefselplakjes (met relevante celtypes) kunnen worden geïsoleerd uit één dier en waarbij deze vervolgens lang genoeg in een goede conditie kunnen worden gehouden voor het uitvoeren van de diverse metingen. Door tussentijdse evaluatie van de meetgegevens kan het mogelijk zijn dat minder dieren nodig zijn dan vooraf werd verwacht op basis van de statistische (power-)analyse en het geschatte aantal metingen per dier. Wanneer er wordt gekeken naar naar één specifiek onderdeel van de pathofysiologie, wordt er een reductie in de variatie verwacht, waardoor statistisch relevante resultaten sneller kunnen worden bereikt. Daarnaast is het mogelijk om in één cel meerdere karakteristieken te bepalen (bijvoorbeeld rust-potentiaal, capaciteit en (geïnduceerde) vuurfrequentie).



Verfijnen	Citaat: Ex-vivo uitvoeren van de experimenten is impliciet een verfijning van de experimenten, aangezien de dieren van het verzamelen van de gegevens zelf geen negatieve gevolgen meer ondervinden. Wel kan er minimaal ongerief ontstaan ten gevolge van een eventuele toediening tijdens de voorbehandeling. Verfijning van de experimenten is mogelijk door een optimaal experimenteel protocol toe te passen waarbij de onderzoeker blind is voor de groep waaraan experimenten worden verricht (diermodel dan wel controle groep). Dit betekent dat een tweede persoon de gegevens uitwerkt om tevens te bepalen of er voldoende gegevens per groep beschikbaar zijn. Het Ex-vivo onderzoek van de experimentele stof verlaagt het risico op onnodige in-vivo testen van niet-actieve stoffen.
<b>Wettelijk vereist onderzoek</b> Indien ja, is er sprake van herhaling?	Er is sprake van wettelijk vereist onderzoek.
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen: Cliënten die ons vragen de experimenten uit te voeren doen dit 1) vanwege onze expertise en 2) omdat de mogelijkheden om binnen de eigen instelling deze experimenten uit te voeren niet aanwezig zijn. Dit betekent dat deze experimenten vaak voor het eerst door ons worden uitgevoerd. De experimentele stoffen die worden onderzocht zijn dikwijls door de cliënt ontwikkeld en niet eerder met de bovengenoemde methoden onderzocht. Goede kennis van de literatuur en netwerken met toponderzoekers in het veld minimaliseren de kans op duplicaat experimenten. In bepaalde gevallen is echter ter validatie van een model of testmethode juist wel replicatie van eerder gepubliceerd werk nodig.	
<b>Hergebruik</b>	Er is geen sprake van hergebruik van dieren.

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	Ja	volgens de richtlijn.



<b>Naam proef</b>		
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	HEP: Worden niet verwacht	
	Ongerief: Terminaal  Licht	

### 5 Samenvatting

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

De aanvrager geeft aan oog te hebben voor het gebruik van beide geslachten, maar dat waarschijnlijk het overgrote merendeel mannelijke dieren zullen zijn. Dit is volgens het secretariaat voldoende onderbouwd.

### 6 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning

Het Secretariaat adviseert dit project toe te wijzen.

Voorstel is om de vergunning te verlenen van 27 juni 2016 tot en met 10 juni 2021

Hierbij stelt het Secretariaat voor de volgende voorwaarden te stellen:

1e vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat go/no go momenten worden afgestemd met de IvD.

Iedere 3 maanden, ingaande vanaf de startdatum van de vergunning, koppelt de aanvrager aan de CCD terug naar welke stoffen er onderzoek heeft plaatsgevonden.

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 overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een



vind je het zinvol de algemene voorwaarden van go/no go toe te voegen en het beschikbaar komen van alternatieven? go/no go momenten zijn niet voorzien en het voorstel maakt uitputtend gebruik van alternatieve methoden namelijk celkweken????



dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken. De algemene voorwaarde betreffende het afstemmen van de go/no go momenten met de IvD wordt gesteld overeenkomstig artikel 10, lid 1 van de wet om onnodige inzet van dieren in dierproeven te voorkomen. Omdat uit uw aanvraag niet blijkt welke stoffen u zal gaan onderzoeken, maar de uit te voeren handelingen wel omschreven zijn, is een voorwaarde opgenomen dat u de CCD moet terugkoppelen naar welke stoffen onderzoek plaats heeft gevonden. De algemene voorwaarde betreffende artikel 10, lid 1 sub a van de wet wordt gesteld bij vergunningen met een langere looptijd. Dit om te voldoen aan datgene wat volgt uit dit artikel.

#### **7 Concept beschikking voor akkoord CCD**



Van: [REDACTED]  
 Aan: [REDACTED]  
 Onderwerp: RE: Aanvulling 5.1 lid2e 016534  
 Datum: dinsdag 21 juni 2016 20:19:18  
 Bijlagen: [REDACTED]

Geachte 5.1 lid2e

Dank voor de verdere vragen en de verheldering omtrent de toepassing van het begrip terminaal experiment. Ik heb de antwoorden op uw vragen hieronder tussen uw vragen gegeven.  
 Vriendelijke groeten,

# 5.1 lid2e, 5.1 lid2h

From: Info-zbo [mailto:info@zbo-ccd.nl]  
 Sent: 17 June 2016 09:22  
 To: [REDACTED]  
 Subject: RE: Aanvulling AVD 5.1 lid2e 2016534

Geachte 5.1 lid2e

Dank voor uw antwoord over de diersoort en het te verwachten ongerief. We hebben nog enkele vragen over uw aanvraag. Voor de aanvraag beschrijft u verschillende ziektemodellen. Kunt u aangeven of de handelingen aan de dieren gelijk zijn, ongeacht het ziektemodel? Met andere woorden maakt alleen de genetische achtergrond de diersmodellen verschillend van elkaar of ook de handelingen die u aan de dieren doet?

De aanvraag is inderdaad geschreven met de toegepaste techniek als centrale component. In principe is het zo dat alle modellen eerst gekarakteriseerd moeten worden ten opzichte van wild-type om te kunnen onderzoeken of er een wezenlijk (met deze methode detecteerbaar) verschil is, alvorens er potentiële geneesmiddelen getest kunnen worden om dit verschil te verkleinen. Wanneer uit voorafgaand onderzoek (bij de klant / ons instituut of in elders (beschreven in de literatuur)) het verschil al is beschreven, is het niet nodig deze experimenten te herhalen en kan meteen worden overgegaan tot het testen van het potentiële geneesmiddel. Het is dan wel van belang om positieve en negatieve controles mee te nemen, zoals beschreven in de bijlage.

U geeft aan dat u licht, matig en terminaal ongerief verwacht. Ongerief wordt als terminaal gedefinieerd, in het registratie boekje van de NVWA, als 'dierproeven die beperkt blijven tot handelingen met dieren onder algehele verdoving, aan het eind waarvan het dier niet meer bij bewustzijn komt en op humane wijze wordt gedood.' Het termineren van een dier en daarna verwijderen van organen, valt dus niet onder terminaal maar onder licht ongerief, zeker als voorafgaand aan het verzamelen van weefsels een behandeling met de te testen stof plaatsvindt. Is met deze informatie de ongeriefclassificatie Terminaal van toepassing voor uw project?

De experimentele handelingen worden in principe pas verricht na terminatie van de dieren. Dat betekent inderdaad dat volgens de hierboven beschreven definitie de experimenten niet terminaal zouden zijn. Het laatste deel van mijn antwoord op de tweede vraag had dus moeten luiden: "Alles bij elkaar zullen naar schatting 90% van de experimenten licht vallen onder licht ongerief en minder dan 10% onder matig ongerief, voortkomend uit de aard van het diersmodel. Het kan zijn dat we op basis van de vragen van onze klanten gaan afwijken van de verwachte percentages. Deze afwijking zou dan te maken hebben met het intrinsieke ongerief bij de individuele dieren van de toegepaste diersmodellen." Sommige dieren zullen een experimentele stof toegediend krijgen, alvorens getermineerd te worden. Kunt u aangeven hoelang de dieren na de toediening nog in leven blijven? Toediening kan (sub)chronisch zijn. Hoe vaak wordt de stof in deze gevallen toegediend?

Net zo als dat we de aard van de te testen stoffen op dit moment niet kunnen definiëren, omdat dit afhankelijk is van de vraag van de klant geldt dat ook voor het toedienings-regime. In de meeste gevallen (60-80% van de studies) zal toediening acuut en kort voor termineren plaatsvinden (op dezelfde dag). (Sub-)chronische toediening kan moeilijker gedefinieerd worden.

Voor de verschillende modellen kan het ongerief oplopen tot matig door de symptomen van het ziektemodel. Ook kunnen er niet eerder opgemerkte bijwerkingen ontstaan bij het toedienen van een experimentele stof. In de NTS en in de Bijlage Dierproeven onder 1, beschrijft u dat dieren geobserveerd worden om ongerief tijdig waar te nemen en te voorkomen. In de Bijlage Dierproeven geeft u echter aan dat er geen humane eindpunten worden verwacht.

Bij matig ongerief als gevolg van de symptomen van het ziektemodel, lijkt het definiëren van criteria voor humane eindpunten logisch. Kunt u aangeven wat de criteria voor de humane eindpunten zijn en hoeveel procent van de dieren kans loopt deze criteria te halen?

Deze opmerking is zeer terecht, in onze oorspronkelijke benadering van deze vraag hebben wij voornamelijk uitgegaan van het mogelijk ongerief ten aanzien van de dieren die direct vanuit de holding onder anesthesie zouden worden getermineerd. Deze benadering gaat inderdaad voorbij aan de door u genoemde aspecten.

Voor ongerief gerelateerd aan de teststof gelden zeer algemene criteria zoals: convulsief gedrag, sterke verandering van lichaamstemperatuur, indien de toediening (sub-)chronisch is afname van lichaamsgewicht > 15%, algehele slechte conditie van het dier (zoals bijvoorbeeld: slechte vacht, oogkleur en huidskleur, meestal in combinatie met andere genoemde criteria) en gedragsuitingen van pijn. Aangezien de test-stoffen die wij gebruiken over het algemeen al eerder in-vivo zijn getest is de kans op een dergelijk eindpunt zeer gering < 1%.

Voor ongerief gerelateerd aan de toe te passen diersmodellen stellen wij voor de specifieke diersmodellen naast onze standaard criteria vaak model specifieke criteria op in overleg met de IvD en/of experts op het gebied van het specifiek model. In veel gevallen zal waar mogelijk worden gewerkt met modellen waar nog geen symptomen zichtbaar zijn, omdat veel medicatie is gericht op preventieve behandeling. Kans op humane eindpunten op basis van diersmodellen is gering 1 - 3%

U geeft aan dat de keuze van diersoort en geslacht voor de individuele protocollen mede afhankelijk is van de wens van de cliënt. Omdat meerdere studies van de cliënt parallel lopen en de resultaten geoptimaliseerd zijn als hierbij diersoort en geslacht overeenkomt, verwacht u dat voor het merendeel van de studies om mannelijke dieren wordt gevraagd. Dit is voor de CCD niet voldoende onderbouwing is om één geslacht te gebruiken. Kunt u voor zover nu bekend meer wetenschappelijke onderbouwing voor de keuze voor mannelijke dieren in combinatie met de voorgestelde diersproeven aanleveren? Bij eerdere besluiten over projectaanvragen is aan de vergunning de voorwaarde verbonden dat de aanvrager wetenschappelijke onderbouwing bij de CCD aanlevert op het moment dat bekend is welke stof wordt getest en de keuze voor 1 of beide geslachten gemaakt kan worden.

De keuze om het geslacht (soort, leeftijd en strain) bij de verschillende studies van de klant gelijk te houden is vaak meer een etische dan een wetenschappelijke. De meeste diersmodellen zijn nog steeds gebaseerd en gevalideerd op jong-adulte mannelijke ratten of muizen. Het valideren van een alternatief model zou leiden tot gebruik van meer proefdieren in plaats van minder. Waar de oorspronkelijke keuze van een opdrachtgever voor een specifiek proefdier (sport/leeftijd/geslacht/strain) op gebaseerd is, is niet altijd wetenschappelijk te onderbouwen, maar vaak een kwestie van voortbouwen op een bestaand model. Gelukkig zien wij dat een aantal van onze klanten serieus de moeite neemt om dieren van beide geslachten te gebruiken, maar helaas is dat geen standaard keuze. Net als bij



voorwaarden op onze vergunning voor electrochemische onderzoeken uit 2015 zouden wij een rol voor de IvD in het overwegen van gebruik van beide geslachten een goede manier vinden om uitdrukking te geven aan dit door de CCD ingezette beleid.

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze e-mail op. Dat kan per e-mail. Als u de informatie voor 23 juni aanlevert, kan deze informatie de komende vergadering meegenomen worden.

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

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Met vriendelijke groeten,

5.1 lid2e  
Centrale Commissie Dierproeven  
[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

T: 0900 - 28 000 28 (10 ct/min)

E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)

Van: 5.1 lid2e

Verzonden: dinsdag 14 juni 2016 21:59

Aan: 'Info-zbo'; 5.1 lid2e

Onderwerp: RE: Aanvulling AVD 5.1 lid2e 2016534

Geachte 5.1 lid2e,

Dank voor uw vragen naar aanleiding van onze aanvraag.

Het is voor ons helaas niet mogelijk exact aan te geven hoeveel ratten of muizen we gaan gebruiken in de beschreven studies. Dit heeft te maken met het feit dat wij contract onderzoek doen en afhankelijk zijn van de vraagstelling van de klant. Op basis van experimenten uit het verleden en de vraagstellingen die wij momenteel hebben liggen van onze klanten is het te verwachten dat het grootste deel van de studies in muizen plaats zal gaan vinden (de meeste dier-modellen zijn gebaseerd op muizen). Van de vijftien studies (5 voor dieren op 1 leeftijd, 5 voor de dieren op 3 leeftijden en 5 studies met test-stoffen) zullen er naar verwachting steeds vier (in totaal 12) worden uitgevoerd in muizen.

Aangaande het te verwachten ongerief kan ik het volgende melden. De dieren in de experimenten waar we verschillende genotypes en leeftijden met elkaar gaan vergelijken zijn allen te classificeren als terminaal. Waarbij voor individuele dieren uit bepaalde diersmodellen matig ongerief zou kunnen voorkomen op basis van de symptomen van het diersmodel. De verwachting is dat dit minder dan bij 10% van de dieren zal zijn (minder dan 5% van het totaal aantal).

Voor het testen van de geneesmiddelen zal een deel van de stoffen (naar schatting 40% (20% van het totaal aantal)) ex-vivo kunnen worden getest. Voor deze stoffen en dieren zijn de experimenten dus terminaal. De rest van de dieren zal tijdens de in-vivo fase nog moeten worden behandeld met de test-stof. Deze dieren zullen licht ongerief ondervinden door het toedienen van de teststof. Net als bij de karakterisatie experimenten zou bij individuele dieren matig ongerief kunnen optreden.

Alles bij elkaar zullen naar schatting 60% van de experimenten terminaal zijn; zullen naar schatting 30% van de dieren licht ongerief ondervinden en minder dan 10% matig ongerief voortkomend uit de aard van het diersmodel. Het kan zijn dat we op basis van de vragen van onze klanten gaan afwijken van de verwachte percentages. Deze afwijking zou dan te maken hebben met het intrinsieke ongerief bij de individuele dieren van de toegepaste diersmodellen.

Mochten er naar aanleiding van de aanvraag nog verdere vragen zijn, ben ik uiteraard bereid deze nog verder toe te lichten.

Met vriendelijke groeten,

5.1 lid2e, 5.1 lid2h

From: Info-zbo [<mailto:info@zbo-ccd.nl>]

Sent: 14 June 2016 15:32

To: 5.1 lid2e

Cc: 5.1 lid2e

Subject: Aanvulling AVD 5.1 lid2e 2016534

Geachte meneer, mevrouw,

Op 2 mei 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen met aanvraagnummer AVD 5.1 lid2e 2016534. In uw aanvraag zit ten voor ons nog enkele onduidelijkheden.

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

Kunt u aangeven hoeveel van de 720 dieren muizen zullen zijn en hoeveel ratten?

Kunt u aangeven hoeveel procent van de dieren licht ongerief zullen ondergaan en hoeveel procent terminaal?

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

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze e-mail op. Dat kan per e-mail. Als u de informatie deze week aanlevert, kan uw aanvraag de komende vergadering behandeld worden.

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

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Met vriendelijke groeten,

5.1 lid2e

Centrale Commissie Dierproeven  
[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

T: 0900 - 28 000 28 (10 ct/min)

E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)

12

11





Datum 17-06-2016  
Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven  
AVD2016534

## Advies aan CCD

Instelling: 5.1 lid2h  
Onderzoeker: 5.1 lid2e  
Project: Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen  
Aanvraagnummer: AVD2016534  
Betreft: Nieuwe aanvraag  
Categoriën: Fundamenteel onderzoek  
Translationeel of toegepast onderzoek  
Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie

### Samenvatting

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

De aanvrager geeft aan oog te hebben voor het gebruik van beide geslachten, maar dat waarschijnlijk het overgrote merendeel mannelijke dieren zullen zijn. Het Secretariaat heeft nadere onderbouwing gevraagd.



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

<p><b>Proces</b></p>	<p>Deze projectaanvraag is ingediend zonder DEC advies. Er is advies gevraagd aan de DEC welke door de aanvrager als voorkeur was opgegeven. Het advies traject van de DEC heeft 35 dagen in beslag genomen, waarbij de termijn voor 2 dagen onderbroken is.</p> <p>De aanvrager is gevraagd het aantal dieren uit te splitsen naar aantal muizen en aantal ratten. De aanvrager heeft aangegeven dat dit vooraf niet mogelijk is, maar schat in dat het grootste deel van de studies in muizen zullen plaatsvinden.</p> <p>Ook is gevraagd aan te geven hoeveel procent van de dieren licht, matig of terminaal ongerief zullen ondergaan. De verwachting is dat minder dan 5% van de dieren matig ongerief zal ervaren. De aanvrager is nog gevraagd aan te geven of het inderdaad de ongeriefclassificatie terminaal ongerief betreft, of dat het hier licht ongerief betreft.</p> <p>Daarnaast is de aanvrager gevraagd of de handelingen aan de dieren gelijk zijn, of dat er per ziektemodel verschillende handelingen zijn. Ook is gevraagd hoelang de dieren na het toedienen van een experimentele stof nog in leven blijven en hoe vaak deze stof wordt toegediend bij (sub)chronische toediening.</p> <p>Er is gevraagd criteria voor hep de definiëren en aan te geven hoeveel procent van de dieren kans loopt deze criteria te halen.</p> <p>Tot slot is gevraagd of de aanvrager meer onderbouwing kan geven voor het gebruik van voornamelijk mannelijke dieren.</p> <p>De antwoorden op de gestelde vragen zijn nog niet ontvangen. Indien ontvangen, zal dit in de vergadering mondeling ingebracht worden. De volledige correspondentie is terug te vinden in vergaderstuk AVD2016534g_RE Aanvulling AVD <span style="background-color: #cccccc;">5.1 lid 2</span> 2016534.msg</p> <p>Er is extern advies ingewonnen bij - de aanvrager is om aanvullingen gevraagd</p>			
<p><b>Naam proef</b></p>	<p><b>Diersoort</b></p>	<p><b>Stam</b></p>	<p><b>Aantal dieren</b></p>	<p><b>Herkomst</b></p>
<p>Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen</p>	<p>Muizen (Mus musculus)</p>		<p>720</p>	<p>Dieren die (in de instelling) gefokt zijn</p>



Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen: De keuze van diersoort en geslacht voor de individuele protocollen is mede afhankelijk van de wens van de cliënt. De cliënt onderzoekt een stof vaak parallel in verschillende studies (bijvoorbeeld naast farmacologie ook toxicologie), waarbij de kwaliteit van de resultaten optimaal is wanneer diersoort, stam en geslacht in de verschillende studies overeenkomen. De keuze van de diersoort kan ook afhankelijk zijn van de aanwezigheid van bepaalde receptor subtypes. In de meeste gevallen (meer dan 95 %, op basis van experimenten in het verleden) zal worden gewerkt met jong volwassen, mannelijke dieren. Wij zullen de mogelijkheid van gebruik van vrouwelijke dieren uitdrukkelijk meenemen in de discussie met onze cliënten.

<b>Locatie uitvoering experimenten</b>	- Alle proeven vinden plaats in een instelling van een vergunninghouder. - Er zijn geen problemen bekend met de vergunninghouder.
<b>Maatschappij</b>	Er wordt niet verwacht dat het onderwerp in die mate politiek of maatschappelijk gevoelig is, dat eventuele extra communicatie uitingen nodig zijn.



## 2 DEC advies



**DEC-advies**

Citaten: Inherent aan ex vivo onderzoek is dat doorgaans meerdere metingen aan het weefsel of orgaan (c.q. weefsels of organen) van hetzelfde dier mogelijk zijn – en dus proefdier besparend is. Electrofysiologie ex vivo aan weefsel of geïsoleerde cellen is een zeer verfijnde activiteit.

Ethische afweging van de DEC:

Citaat: Analyse van de werking van geneesmiddelen aan de hand van electrofysiologische parameters van de celmembranen ex vivo – d.w.z. in weefsels/cellen van voorbehandelde dieren – is een nieuwe benadering om de functionele interacties van geneesmiddelen met membraan-eiwitten tijdsafhankelijk en dosisafhankelijk te bestuderen. Gebruik wordt gemaakt van (meest genetische) diermodellen van de ziekten van Alzheimer, Huntington en Parkinson, van cystische fibrose en van polycystische nierziekte. Deze **514325** die een internationale reputatie heeft (vooral) op het gebied van microdialyse in vivo (ook in combinatie met electrofysiologische metingen) breidt hiermee het arsenaal aan technieken zodanig uit dat interpretatie tot op het niveau van individuele ion kanalen mogelijk wordt.

Het project is uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord en het is waarschijnlijk dat de doeleinden worden gehaald. De DEC oordeelt dan ook dat de schade in de vorm van lijden, pijn en angst bij de dieren wordt gerechtvaardigd door het verwachte resultaat. Zij weegt daarbij mee dat gezien de ernst van de aandoeningen het maatschappelijk belang om de lokale aangrijpingspunten van de werking van (nieuwe) farmaca te analyseren evident is alsmede dat vanwege het ex vivo karakter van de experimenten het ongerief beperkt is.

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

De strekking van de vragen aan de aanvrager: uitleg waarom er drie categorieën van toepassing zijn; ziektemodellen beter beschrijven; het te gebruiken model voor de ziekte van Parkinson; onderbouwing van dieraantallen. De aanvrager heeft alle vragen met grote zorgvuldigheid beantwoord en de aanvraag conform aangepast.

Het DEC advies is Positief

Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

Het Secretariaat volgt het DEC-advies.



### 3 Kwaliteit DEC advies

<b>Kwaliteit DEC-advies</b>	Het DEC-advies is volledig.
	Er is geen gebruik gemaakt van het verschoningsrecht.  De DEC is voldoende onafhankelijk volgens het Secretariaat.
Het DEC advies is zeer summier.	

### 4 Inhoudelijke beoordeling

<b>Belangen- verstrengeling</b>	Geen van de medewerkers van het Secretariaat heeft een arbeidsrelatie gehad met de aanvrager die minder dan 5 jaar geleden is beëindigd of heeft andere belangen die mogelijk zouden kunnen leiden tot oneigenlijke beïnvloeding.
<b>Doelstelling</b> Doelstelling	<p>Citaat: Doel van het project is het toepassen van patch-clamp technieken voor de opheldering van mechanismen die een rol spelen bij neuropsychiatrische aandoeningen zoals de ziekte van Huntington. We willen dit doen door de karakteristieken van cellen van wild-type dieren te vergelijken met die van cellen gewonnen uit het voorgestelde diermodel van de ziekte van Huntington. Het project voorziet tevens in de mogelijkheid om nieuwe geneesmiddelen te testen in de context van deze mechanismen. Onderzocht zal worden of de gemeten verschillen tussen wild-type en diermodel kunnen worden gemoduleerd en welke rol de kanaal-activiteit speelt bij deze modulatie. Metingen kunnen worden uitgevoerd op het niveau van single channels, waarbij het effect van een potentieel geneesmiddel kan worden bepaald op de geleidbaarheid van één enkel specifiek membraan-eiwit (zie bijvoorbeeld: Fischer et al. (2008) Activation of the CFTR Cl<sup>-</sup> channel by trimethoxyflavone in vitro and in vivo. Cell. Physiol. Biochem. 22(5-6):685-92), maar ook op de connectiviteit tussen groepen cellen (zie bijvoorbeeld: Kroker et al. (2013) Restoring long-term potentiation impaired by amyloid-beta oligomers: comparison of an acetylcholinesterase inhibitor and selective neuronal nicotinic receptor agonists. Brain Res. Bull. 96:28-38).</p> <p>De aanvrager geeft aan (citaat): Hoewel ex-vivo elektrofysiologisch onderzoek niet de totale fysiologie van het proefdier reflecteert en dus geen uitspraak kan doen over werking van een experimentele stof in een intact organisme, kan het wel informatie opleveren over werkzaamheid en werkingsmechanisme van deze stof. Een belangrijk voordeel van deze techniek is dat het een aantoonbare verfijning en vermindering van aantal benodigde dieren oplevert.</p>



Wetenschappelijk en maatschappelijk belang	Citaat: Het voorgestelde onderzoek levert een belangrijke bijdrage aan het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen tegen neuropsychiatrische aandoeningen. Naar schatting 25% van de wereld bevolking krijgt in zijn leven te maken met aandoeningen zoals de ziekte van Parkinson, Huntington of Alzheimer, schizofrenie, of depressie (WHO). Ongeveer de helft van de volwassenen heeft een chronische ziekte die die in veel gevallen uiteindelijk ook de oorzaak is van het overlijden (70%) (NHC). Op dit moment zijn voor deze ziekten maar beperkt geneesmiddelen beschikbaar. Het is daarom van groot belang dat nieuwe farmaca worden ontwikkeld. Elektrofysiologisch onderzoek op het niveau van weefsel of cellen is een goede screeningsmethode voor de werkzaamheid van nieuwe geneesmiddelen, die samengaat met een high throughput en gebruik van relatief weinig proefdieren.
Onderbouwing wetenschappelijk en maatschappelijk belang	Het belang is voldoende uitgewerkt.
<b>Wetenschappelijke kwaliteit</b> Kwaliteit aanvragers en onderzoek	Het secretariaat heeft geen reden te twijfelen aan de kwaliteit van de aanvragers en het onderzoek.
<b>3V's</b> Vervangen	Citaat: Vervanging van deze experimenten is in beperkte mate mogelijk door gebruik te maken van cel-lijnen van cellen die de betrokken receptoren tot expressie brengen. Echter, wanneer het aankomt op het bestuderen van interacties tussen cellen in neuronale netwerken of de effecten van progressieve ziektebeelden, waarbij de expressie van bepaalde pathogene eiwitten (bijvoorbeeld een polyQ Huntingtine eiwit dat plaques vormt) een rol spelen is het niet mogelijk om dit in een volledig in-vitro model na te bootsen. In een dergelijk geval is toepassing van een ex-vivo model, waarin de neuronale connecties of het ziektebeeld zich hebben kunnen ontwikkelen, van groot belang.
Verminderen	Citaat: Vermindering van aantallen dieren in deze experimenten is mogelijk wanneer meerdere cellen of weefselplakjes (met relevante celtypes) kunnen worden geïsoleerd uit één dier en waarbij deze vervolgens lang genoeg in een goede conditie kunnen worden gehouden voor het uitvoeren van de diverse metingen. Door tussentijdse evaluatie van de meetgegevens kan het mogelijk zijn dat minder dieren nodig zijn dan vooraf werd verwacht op basis van de statistische (power-)analyse en het geschatte aantal metingen per dier. Wanneer er wordt gekeken naar naar één specifiek onderdeel van de pathofysiologie, wordt er een reductie in de variatie verwacht, waardoor statistisch relevante resultaten sneller kunnen worden bereikt. Daarnaast is het mogelijk om in één cel meerdere karakteristieken te bepalen (bijvoorbeeld rust-potentiaal, capaciteit en (geïnduceerde) vuurfrequentie).



Verfijnen	Citaat: Ex-vivo uitvoeren van de experimenten is impliciet een verfijning van de experimenten, aangezien de dieren van het verzamelen van de gegevens zelf geen negatieve gevolgen meer ondervinden. Wel kan er minimaal ongerief ontstaan ten gevolge van een eventuele toediening tijdens de voorbehandeling. Verfijning van de experimenten is mogelijk door een optimaal experimenteel protocol toe te passen waarbij de onderzoeker blind is voor de groep waaraan experimenten worden verricht (diermodel dan wel controle groep). Dit betekent dat een tweede persoon de gegevens uitwerkt om tevens te bepalen of er voldoende gegevens per groep beschikbaar zijn. Het Ex-vivo onderzoek van de experimentele stof verlaagt het risico op onnodige in-vivo testen van niet-actieve stoffen.
<b>Wettelijk vereist onderzoek</b> Indien ja, is er sprake van herhaling?	Er is sprake van wettelijk vereist onderzoek.
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen: Cliënten die ons vragen de experimenten uit te voeren doen dit 1) vanwege onze expertise en 2) omdat de mogelijkheden om binnen de eigen instelling deze experimenten uit te voeren niet aanwezig zijn. Dit betekent dat deze experimenten vaak voor het eerst door ons worden uitgevoerd. De experimentele stoffen die worden onderzocht zijn dikwijls door de cliënt ontwikkeld en niet eerder met de bovengenoemde methoden onderzocht. Goede kennis van de literatuur en netwerken met toponderzoekers in het veld minimaliseren de kans op duplicaat experimenten. In bepaalde gevallen is echter ter validatie van een model of testmethode juist wel replicatie van eerder gepubliceerd werk nodig.	
<b>Hergebruik</b>	Er is geen sprake van hergebruik van dieren.

<b>Naam proef</b>	<b>Worden de dieren gedood?</b>	<b>Doden volgens richtlijn?</b>
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	Ja	volgens de richtlijn.



Naam proef		
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	HEP: Worden niet verwacht	
	Ongerief: Terminaal  Matig Licht	

Citaat: De experimenten zelf zijn in principe terminaal. Toediening van de experimentele stof voor termineren is in principe licht ongerief voor de dieren. Wanneer diermodellen met intrinsiek ongerief worden ingezet zal het ongerief matig worden.

### 5 Samenvatting

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

De aanvrager geeft aan oog te hebben voor het gebruik van beide geslachten, maar dat waarschijnlijk het overgrote merendeel mannelijke dieren zullen zijn. Het Secretariaat heeft nadere onderbouwing gevraagd.

### 6 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning

Het Secretariaat adviseert dit project toe te wijzen.

Voorstel is om de vergunning te verlenen van 27 juni 2016 tot en met 10 juni 2021

Hierbij stelt het Secretariaat voor de volgende voorwaarden te stellen:

Iedere 3 maanden, ingaande vanaf de startdatum van de vergunning, koppelt de aanvrager aan de CCD terug naar welke stoffen er onderzoek heeft plaatsgevonden. Omdat uit uw aanvraag niet blijkt welke stoffen u zal gaan onderzoeken, maar de uit te voeren handelingen wel omschreven zijn, is een voorwaarde opgenomen dat u de CCD moet terugkoppelen naar welke stoffen onderzoek plaats heeft gevonden.

### 7 Concept beschikking voor akkoord CCD






Datum 17-06-2016  
Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven  
AVD2016534

## Advies aan CCD

Instelling: 5.1 lid2h  
Onderzoeker: 5.1 lid2e  
Project: Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen  
Aanvraagnummer: AVD2016534  
Betreft: Nieuwe aanvraag  
Categoriën: Fundamenteel onderzoek  
Translatieel of toegepast onderzoek  
Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie

### Samenvatting

Het projectvoorstel bevat voldoende informatie over het belang van het onderzoek, de strategie en de 3V's om tot een oordeel te kunnen komen.  1

De aanvrager geeft aan oog te hebben voor het gebruik van beide geslachten, maar dat waarschijnlijk het overgrote merendeel mannelijke dieren zullen zijn. Het Secretariaat heeft nadere onderbouwing gevraagd.  2



# Overzicht van opm[ing]ingen bij 14. AdviesNotaCCD\_5.1 lid2e.pdf

---

Pagina: 1

---

Nummer: 1      Auteur: 5.1 lid2e      Onderwerp: Notitie Datum: 17-6-2016 12:22:45

---

Zou hier nog een zin aan toevoegen als:

Hoewel het algemene doel van de projectaanvraag helder is, mist in de experimentele opzet informatie om effect op de dieren en dierenwelzijn goed navolgbaar te maken. Aan de aanvrager is gevraagd deze punten te verduidelijken. Dit staat besluitvorming niet in de weg.


Nummer: 2      Auteur: 5.1 lid2e      Onderwerp: Notitie Datum: 17-6-2016 12:26:49

---

hier toevoegen waarom de algemene voorwaarden niet worden gedaan?









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

<p><b>Proces</b></p>	<p>Deze projectaanvraag is Ingediend zonder DEC advies. Er is advies gevraagd aan de DEC welke door de aanvrager als voorkeur was opgegeven. Het advies traject van de DEC heeft 35 dagen in beslag genomen, waarbij de termijn voor 2 dagen onderbroken is.</p> <p>De aanvrager is gevraagd het aantal dieren uit te splitsen naar aantal muizen en aantal ratten. De aanvrager heeft aangegeven dat dit vooraf niet mogelijk is, maar schat in dat het grootste deel van de studies in muizen zullen plaatsvinden.</p> <p>Ook is gevraagd aan te geven hoeveel procent van de dieren licht, matig of terminaal ongerief zullen ondergaan. De verwachting is dat minder dan 5% van de dieren matig ongerief zal ervaren. De aanvrager is nog gevraagd aan te geven of het inderdaad de ongeriefclassificatie terminaal ongerief betreft, of dat het hier licht ongerief betreft.</p> <p>Daarnaast is de aanvrager gevraagd of de handelingen aan de dieren gelijk zijn, of dat er per ziektemodel verschillende handelingen zijn. Ook is gevraagd hoelang de dieren na het toedienen van een experimentele stof nog in leven blijven en hoe vaak deze stof wordt toegediend bij (sub)chronische toediening.</p> <p>Er is gevraagd criteria voor <sup>1</sup> te definiëren en aan te geven hoeveel procent van de dieren kans loopt deze criteria te halen.</p> <p>Tot slot is gevraagd of de aanvrager meer onderbouwing kan geven voor het gebruik van voornamelijk mannelijke dieren <sup>2</sup></p> <p>De antwoorden op de gestelde vragen zijn nog niet ontvangen. Indien ontvangen, zal dit in de vergadering mondeling ingebracht worden.</p> <p>De volledige correspondentie is terug te vinden in vergaderstuk AVD2016534g_RE Aanvulling AVD <sup>3</sup> 2016534.msg</p> <p>Er is extern advies ingewonnen bij - de aanvrager is om aanvullingen gevraagd</p>			
<p><b>Naam proef</b></p>	<p><b>Diersoort</b></p>	<p><b>Stam</b></p>	<p><b>Aantal dieren</b></p>	<p><b>Herkomst</b></p>
<p>Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen</p>	<p>Muizen (Mus musculus)</p> <p></p>		<p>720</p>	<p>Dieren die (in de instelling) gefokt zijn</p>



## Pagina: 2

- 
-  Nummer: 1    Auteur:     Onderwerp: Markering    Datum: 17-6-2016 12:23:14  
HEP
- 
-  Nummer: 2    Auteur:     Onderwerp: Notitie Datum: 17-6-2016 12:25:19  
Wanneer aanvrager dit niet op voorhand kan doen zal een voorwaarde worden toegevoegd dat gekoppeld aan het melden van de te gebruiken stoffen tegelijkertijd een beargumenteerde keuze voor het geslacht van de dieren wordt gegeven.
- 
-  Nummer: 3    Auteur:     Onderwerp: Notitie Datum: 17-6-2016 12:25:31  
rat



Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen: De keuze van diersoort en geslacht voor de individuele protocollen is mede afhankelijk van de wens van de cliënt. De cliënt onderzoekt een stof vaak parallel in verschillende studies (bijvoorbeeld naast farmacologie ook toxicologie), waarbij de kwaliteit van de resultaten optimaal is wanneer diersoort, stam en geslacht in de verschillende studies overeenkomen. De keuze van de diersoort kan ook afhankelijk zijn van de aanwezigheid van bepaalde receptor subtypes. In de meeste gevallen (meer dan 95 %, op basis van experimenten in het verleden) zal worden gewerkt met jong volwassen, mannelijke dieren. Wij zullen de mogelijkheid van gebruik van vrouwelijke dieren uitdrukkelijk meenemen in de discussie met onze cliënten.

<b>Locatie uitvoering experimenten</b>	- Alle proeven vinden plaats in een instelling van een vergunninghouder. - Er zijn geen problemen bekend met de vergunninghouder.
<b>Maatschappij</b>	Er wordt niet verwacht dat het onderwerp in die mate politiek of maatschappelijk gevoelig is, dat eventuele extra communicatie uitingen nodig zijn.



**2 DEC advies**



<p><b>DEC-advies</b></p>	<p>Citaten: Inherent aan ex vivo onderzoek is dat doorgaans meerdere metingen aan het weefsel of orgaan (c.q. weefsels of organen) van hetzelfde dier mogelijk zijn – en dus proefdier besparend is. Electrofysiologie ex vivo aan weefsel of geïsoleerde cellen is een zeer verfijnde activiteit.</p> <p>Ethische afweging van de DEC:  Citaat: Analyse van de werking van geneesmiddelen aan de hand van electrofysiologische parameters van de celmembranen ex vivo – d.w.z. in weefsels/cellen van voorbehandelde dieren – is een nieuwe benadering om de functionele interacties van geneesmiddelen met membraan-eiwitten tijdsafhankelijk en dosisafhankelijk te bestuderen. Gebruik wordt gemaakt van (meest genetische) diermodellen van de ziekten van Alzheimer, Huntington en Parkinson, van cystische fibrose en van polycystische nierziekte. Deze <b>NIH</b> die een internationale reputatie heeft (vooral) op het gebied van microdialyse in vivo (ook in combinatie met electrofysiologische metingen) breidt hiermee het arsenaal aan technieken zodanig uit dat interpretatie tot op het niveau van individuele ion kanalen mogelijk wordt.</p> <p>Het project is uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord en het is waarschijnlijk dat de doeleinden worden gehaald. De DEC oordeelt dan ook dat de schade in de vorm van lijden, pijn en angst bij de dieren wordt gerechtvaardigd door het verwachte resultaat. Zij weegt daarbij mee dat gezien de ernst van de aandoeningen het maatschappelijk belang om de lokale aangrijpingspunten van de werking van (nieuwe) farmaca te analyseren evident is alsmede dat vanwege het ex vivo karakter van de experimenten het ongerief beperkt is.</p> <p>De DEC heeft extern advies ingewonnen bij  - de aanvrager is om aanvullingen gevraagd  De strekking van de vragen aan de aanvrager: uitleg waarom er drie categorieën van toepassing zijn; ziektemodellen beter beschrijven; het te gebruiken model voor de ziekte van Parkinson; onderbouwing van dieraantallen. De aanvrager heeft alle vragen met grote zorgvuldigheid beantwoord en de aanvraag conform aangepast.</p> <p>Het DEC advies is Positief</p> <p>Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.</p> <p>Het Secretariaat volgt het DEC-advies.</p>
--------------------------	---



### 3 Kwaliteit DEC advies

<b>Kwaliteit DEC-advies</b>	Het DEC-advies is volledig.
	Er is geen gebruik gemaakt van het verschoningsrecht.
	De DEC is voldoende onafhankelijk volgens het Secretariaat.
Het DEC advies is zeer summier.	

### 4 Inhoudelijke beoordeling

<b>Belangen- verstrengeling</b>	Geen van de medewerkers van het Secretariaat heeft een arbeidsrelatie gehad met de aanvrager die minder dan 5 jaar geleden is beëindigd of heeft andere belangen die mogelijk zouden kunnen leiden tot oneigenlijke beïnvloeding.
<b>Doelstelling</b> Doelstelling	<p>Citaat: Doel van het project is het toepassen van patch-clamp technieken voor de opheldering van mechanismen die een rol spelen bij neuropsychiatrische aandoeningen zoals de ziekte van Huntington. We willen dit doen door de karakteristieken van cellen van wild-type dieren te vergelijken met die van cellen gewonnen uit het voorgestelde diermodel van de ziekte van Huntington. Het project voorziet tevens in de mogelijkheid om nieuwe geneesmiddelen te testen in de context van deze mechanismen. Onderzocht zal worden of de gemeten verschillen tussen wild-type en diermodel kunnen worden gemoduleerd en welke rol de kanaal-activiteit speelt bij deze modulatie. Metingen kunnen worden uitgevoerd op het niveau van single channels, waarbij het effect van een potentieel geneesmiddel kan worden bepaald op de geleidbaarheid van één enkel specifiek membraan-eiwit (zie bijvoorbeeld: Fischer et al. (2008) Activation of the CFTR Cl<sup>-</sup> channel by trimethoxyflavone in vitro and in vivo. Cell. Physiol. Biochem. 22(5-6):685-92), maar ook op de connectiviteit tussen groepen cellen (zie bijvoorbeeld: Kroker et al. (2013) Restoring long-term potentiation impaired by amyloid-beta oligomers: comparison of an acetylcholinesterase inhibitor and selective neuronal nicotinic receptor agonists. Brain Res. Bull. 96:28-38).</p> <p>De aanvrager geeft aan (citaat): Hoewel ex-vivo elektrofysiologisch onderzoek niet de totale fysiologie van het proefdier reflecteert en dus geen uitspraak kan doen over werking van een experimentele stof in een intact organisme, kan het wel informatie opleveren over werkzaamheid en werkingsmechanisme van deze stof. Een belangrijk voordeel van deze techniek is dat het een aantoonbare verfijning en vermindering van aantal benodigde dieren oplevert.</p>



Wetenschappelijk en maatschappelijk belang	Citaat: Het voorgestelde onderzoek levert een belangrijke bijdrage aan het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen tegen neuropsychiatrische aandoeningen. Naar schatting 25% van de wereld bevolking krijgt in zijn leven te maken met aandoeningen zoals de ziekte van Parkinson, Huntington of Alzheimer, schizofrenie, of depressie (WHO). Ongeveer de helft van de volwassenen heeft een chronische ziekte die die in veel gevallen uiteindelijk ook de oorzaak is van het overlijden (70%) (NHC). Op dit moment zijn voor deze ziekten maar beperkt geneesmiddelen beschikbaar. Het is daarom van groot belang dat nieuwe farmaca worden ontwikkeld. Elektrofysiologisch onderzoek op het niveau van weefsel of cellen is een goede screeningsmethode voor de werkzaamheid van nieuwe geneesmiddelen, die samengaat met een high throughput en gebruik van relatief weinig proefdieren.
Onderbouwing wetenschappelijk en maatschappelijk belang	Het belang is voldoende uitgewerkt.
<b>Wetenschappelijke kwaliteit</b> Kwaliteit aanvragers en onderzoek	Het secretariaat heeft geen reden te twifelen aan de kwaliteit van de aanvragers en het onderzoek.
<b>3V's</b> Vervangen	Citaat: Vervanging van deze experimenten is in beperkte mate mogelijk door gebruik te maken van cel-lijnen van cellen die de betrokken receptoren tot expressie brengen. Echter, wanneer het aankomt op het bestuderen van interacties tussen cellen in neuronale netwerken of de effecten van progressieve ziektebeelden, waarbij de expressie van bepaalde pathogene eiwitten (bijvoorbeeld een polyQ Huntingtine eiwit dat plaques vormt) een rol spelen is het niet mogelijk om dit in een volledig in-vitro model na te bootsen. In een dergelijk geval is toepassing van een ex-vivo model, waarin de neuronale connecties of het ziektebeeld zich hebben kunnen ontwikkelen, van groot belang.
Verminderen	Citaat: Vermindering van aantallen dieren in deze experimenten is mogelijk wanneer meerdere cellen of weefselplakjes (met relevante celtypes) kunnen worden geïsoleerd uit één dier en waarbij deze vervolgens lang genoeg in een goede conditie kunnen worden gehouden voor het uitvoeren van de diverse metingen. Door tussentijdse evaluatie van de meetgegevens kan het mogelijk zijn dat minder dieren nodig zijn dan vooraf werd verwacht op basis van de statistische (power-)analyse en het geschatte aantal metingen per dier. Wanneer er wordt gekeken naar naar één specifiek onderdeel van de pathofysiologie, wordt er een reductie in de variatie verwacht, waardoor statistisch relevante resultaten sneller kunnen worden bereikt. Daarnaast is het mogelijk om in één cel meerdere karakteristieken te bepalen (bijvoorbeeld rust-potentiaal, capaciteit en (geïnduceerde) vuurfrequentie).



Verfijnen	Citaat: Ex-vivo uitvoeren van de experimenten is impliciet een verfijning van de experimenten, aangezien de dieren van het verzamelen van de gegevens zelf geen negatieve gevolgen meer ondervinden. Wel kan er minimaal ongerief ontstaan ten gevolge van een eventuele toediening tijdens de voorbehandeling. Verfijning van de experimenten is mogelijk door een optimaal experimenteel protocol toe te passen waarbij de onderzoeker blind is voor de groep waaraan experimenten worden verricht (diermodel dan wel controle groep). Dit betekent dat een tweede persoon de gegevens uitwerkt om tevens te bepalen of er voldoende gegevens per groep beschikbaar zijn. Het Ex-vivo onderzoek van de experimentele stof verlaagt het risico op onnodige in-vivo testen van niet-actieve stoffen.
<b>Wettelijk vereist onderzoek</b> Indien ja, is er sprake van herhaling?	Er is sprake van wettelijk vereist onderzoek.
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen: Cliënten die ons vragen de experimenten uit te voeren doen dit 1) vanwege onze expertise en 2) omdat de mogelijkheden om binnen de eigen instelling deze experimenten uit te voeren niet aanwezig zijn. Dit betekent dat deze experimenten vaak voor het eerst door ons worden uitgevoerd. De experimentele stoffen die worden onderzocht zijn dikwijls door de cliënt ontwikkeld en niet eerder met de bovengenoemde methoden onderzocht. Goede kennis van de literatuur en netwerken met toponderzoekers in het veld minimaliseren de kans op duplicaat experimenten. In bepaalde gevallen is echter ter validatie van een model of testmethode juist wel replicatie van eerder gepubliceerd werk nodig.	
<b>Hergebruik</b>	Er is geen sprake van hergebruik van dieren.

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	Ja	volgens de richtlijn.



Naam proef		
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	HEP: Worden niet verwacht	
	Ongerief: Terminaal  Matig Licht	

Citaat: De experimenten zelf zijn in principe terminaal. Toediening van de experimentele stof voor termineren is in principe licht ongerief voor de dieren. Wanneer diermodellen met intrinsiek ongerief worden ingezet zal het ongerief matig worden.

#### 5 Samenvatting

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

De aanvrager geeft aan oog te hebben voor het gebruik van beide geslachten, maar dat waarschijnlijk het overgrote merendeel mannelijke dieren zullen zijn. Het Secretariaat heeft nadere onderbouwing gevraagd.

#### 6 Voorstel besluit incl. stel geldigheidsduur van de vergunning

Het Secretariaat adviseert het project toe te wijzen.

Voorstel is om de vergunning te verlenen van 27 juni 2016 tot en met 10 juni 2021

Hierbij stelt het Secretariaat voor de volgende voorwaarden te stellen:

Iedere 3 maanden, ingaande vanaf de startdatum van de vergunning, koppelt de aanvrager aan de CCD terug naar welke stoffen er onderzoek heeft plaatsgevonden. Omdat uit uw aanvraag niet blijkt welke stoffen u zal gaan onderzoeken, maar de uit te voeren handelingen wel omschreven zijn, is een voorwaarde opgenomen dat u de CCD moet terugkoppelen naar welke stoffen onderzoek plaats heeft gevonden.

#### 7 Concept beschikking voor akkoord CCD









Datum 17-06-2016  
Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven  
AVD2016534

## Advies aan CCD

Instelling: 5.1 lid2h  
Onderzoeker: 5.1 lid2e  
Project: Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen  
Aanvraagnummer: AVD2016534  
Betreft: Nieuwe aanvraag  
Categoriën: Fundamenteel onderzoek  
Translationeel of toegepast onderzoek  
Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie

### Samenvatting



Het projectvoorstel bevat voldoende informatie over het belang van het onderzoek, de strategie en de 3V's om tot een oordeel te kunnen komen. Hoewel het algemene doel van de projectaanvraag helder is, mist in de experimentele opzet informatie om effect op de dieren en dierenwelzijn goed navolgbaar te maken. Aan de aanvrager is gevraagd deze punten te verduidelijken. Dit staat besluitvorming niet in de weg.

De aanvrager geeft aan oog te hebben voor het gebruik van beide geslachten, maar dat waarschijnlijk het overgrote merendeel mannelijke dieren zullen zijn. Het Secretariaat heeft nadere onderbouwing gevraagd.

Het Secretariaat stelt voor de algemene voorwaarde artikel 10, lid 1 sub a, betreffende alternatieven, niet te stellen omdat in dit onderzoek al gebruik wordt gemaakt van alternatieve methodes.



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

<b>Proces</b>	<p>Deze projectaanvraag is ingediend zonder DEC advies. Er is advies gevraagd aan de DEC welke door de aanvrager als voorkeur was opgegeven. Het advies traject van de DEC heeft 35 dagen in beslag genomen, waarbij de termijn voor 2 dagen onderbroken is.</p> <p>De aanvrager is gevraagd het aantal dieren uit te splitsen naar aantal muizen en aantal ratten. De aanvrager heeft aangegeven dat dit vooraf niet mogelijk is, maar schat in dat het grootste deel van de studies in muizen zullen plaatsvinden.</p> <p>Ook is gevraagd aan te geven hoeveel procent van de dieren licht, matig of terminaal ongerief zullen ondergaan. De verwachting is dat minder dan 5% van de dieren matig ongerief zal ervaren. De aanvrager is nog gevraagd aan te geven of het inderdaad de ongeriefclassificatie terminaal ongerief betreft, of dat het hier licht ongerief betreft.</p> <p>Daarnaast is de aanvrager gevraagd of de handelingen aan de dieren gelijk zijn, of dat er per ziektemodel verschillende handelingen zijn. Ook is gevraagd hoelang de dieren na het toedienen van een experimentele stof nog in leven blijven en hoe vaak deze stof wordt toegediend bij (sub)chronische toediening.</p> <p>Er is gevraagd criteria voor HEP te definiëren en aan te geven hoeveel procent van de dieren kans loopt deze criteria te halen.</p> <p>Tot slot is gevraagd of de aanvrager meer onderbouwing kan geven voor het gebruik van voornamelijk mannelijke dieren. Wanneer aanvrager dit niet op voorhand kan doen zal een voorwaarde worden toegevoegd dat gekoppeld aan het melden van de te gebruiken stoffen tegelijkertijd een beargumenteerde keuze voor het geslacht van de dieren wordt gegeven.</p> <p>De antwoorden op de gestelde vragen zijn nog niet ontvangen. Indien ontvangen, zal dit in de vergadering mondeling ingebracht worden. De volledige correspondentie is terug te vinden in vergaderstuk AVD2016534g_RE Aanvulling AVD <a href="#">5.1 lid 2b</a> 016534.msg</p> <p>Er is extern advies ingewonnen bij - de aanvrager is om aanvullingen gevraagd</p>
---------------	--



<b>Naam proef</b>	<b>Diersoort</b>	<b>Stam</b>	<b>Aantal dieren</b>	<b>Herkomst</b>
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	Muizen (Mus musculus) Ratten (Rattus norvegicus )		720	Dieren die (in de instelling) gefokt zijn

Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen: De keuze van diersoort en geslacht voor de individuele protocollen is mede afhankelijk van de wens van de cliënt. De cliënt onderzoekt een stof vaak parallel in verschillende studies (bijvoorbeeld naast farmacologie ook toxicologie), waarbij de kwaliteit van de resultaten optimaal is wanneer diersoort, stam en geslacht in de verschillende studies overeenkomen. De keuze van de diersoort kan ook afhankelijk zijn van de aanwezigheid van bepaalde receptor subtypes. In de meeste gevallen (meer dan 95 %, op basis van experimenten in het verleden) zal worden gewerkt met jong volwassen, mannelijke dieren. Wij zullen de mogelijkheid van gebruik van vrouwelijke dieren uitdrukkelijk meenemen in de discussie met onze cliënten.

<b>Locatie uitvoering experimenten</b>	- Alle proeven vinden plaats in een instelling van een vergunninghouder. - Er zijn geen problemen bekend met de vergunninghouder.
<b>Maatschappij</b>	Er wordt niet verwacht dat het onderwerp in die mate politiek of maatschappelijk gevoelig is, dat eventuele extra communicatie uitingen nodig zijn.



## 2 DEC advies

De raad heeft kennis genomen van het advies van de commissie van toezicht op de werking van de wet op de openbare omroep (COT) van 2 december 2010.

De raad heeft kennis genomen van het advies van de commissie van toezicht op de werking van de wet op de openbare omroep (COT) van 2 december 2010.

De raad heeft kennis genomen van het advies van de commissie van toezicht op de werking van de wet op de openbare omroep (COT) van 2 december 2010.

De raad heeft kennis genomen van het advies van de commissie van toezicht op de werking van de wet op de openbare omroep (COT) van 2 december 2010.

De raad heeft kennis genomen van het advies van de commissie van toezicht op de werking van de wet op de openbare omroep (COT) van 2 december 2010.

De raad heeft kennis genomen van het advies van de commissie van toezicht op de werking van de wet op de openbare omroep (COT) van 2 december 2010.

De raad heeft kennis genomen van het advies van de commissie van toezicht op de werking van de wet op de openbare omroep (COT) van 2 december 2010.

De raad heeft kennis genomen van het advies van de commissie van toezicht op de werking van de wet op de openbare omroep (COT) van 2 december 2010.

De raad heeft kennis genomen van het advies van de commissie van toezicht op de werking van de wet op de openbare omroep (COT) van 2 december 2010.

De raad heeft kennis genomen van het advies van de commissie van toezicht op de werking van de wet op de openbare omroep (COT) van 2 december 2010.



<p><b>DEC-advies</b></p>	<p>Citaten: Inherent aan ex vivo onderzoek is dat doorgaans meerdere metingen aan het weefsel of orgaan (c.q. weefsels of organen) van hetzelfde dier mogelijk zijn – en dus proefdier besparend is. Electrofysiologie ex vivo aan weefsel of geïsoleerde cellen is een zeer verfijnde activiteit.</p> <p>Ethische afweging van de DEC:  Citaat: Analyse van de werking van geneesmiddelen aan de hand van electrofysiologische parameters van de celmembranen ex vivo – d.w.z. in weefsels/cellen van voorbehandelde dieren – is een nieuwe benadering om de functionele interacties van geneesmiddelen met membraan-eiwitten tijdsafhankelijk en dosisafhankelijk te bestuderen. Gebruik wordt gemaakt van (meest genetische) diermodellen van de ziekten van Alzheimer, Huntington en Parkinson, van cystische fibrose en van polycystische nierziekte. Deze <span style="background-color: #cccccc;">011027</span> die een internationale reputatie heeft (vooral) op het gebied van microdialyse in vivo (ook in combinatie met electrofysiologische metingen) breidt hiermee het arsenaal aan technieken zodanig uit dat interpretatie tot op het niveau van individuele ion kanalen mogelijk wordt.</p> <p>Het project is uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord en het is waarschijnlijk dat de doeleinden worden gehaald. De DEC oordeelt dan ook dat de schade in de vorm van lijden, pijn en angst bij de dieren wordt gerechtvaardigd door het verwachte resultaat. Zij weegt daarbij mee dat gezien de ernst van de aandoeningen het maatschappelijk belang om de lokale aangrijpingspunten van de werking van (nieuwe) farmaca te analyseren evident is alsmede dat vanwege het ex vivo karakter van de experimenten het ongerief beperkt is.</p> <p>De DEC heeft extern advies ingewonnen bij  - de aanvrager is om aanvullingen gevraagd  De strekking van de vragen aan de aanvrager: uitleg waarom er drie categoriën van toepassing zijn; ziektemodellen beter beschrijven; het te gebruiken model voor de ziekte van Parkinson; onderbouwing van dieraantallen. De aanvrager heeft alle vragen met grote zorgvuldigheid beantwoord en de aanvraag conform aangepast.</p> <p>Het DEC advies is Positief</p> <p>Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.</p> <p>Het Secretariaat volgt het DEC-advies.</p>
--------------------------	--



### 3 Kwaliteit DEC advies

<b>Kwaliteit DEC-advies</b>	Het DEC-advies is volledig.
	Er is geen gebruik gemaakt van het verschoningsrecht.
	De DEC is voldoende onafhankelijk volgens het Secretariaat.
Het DEC advies is zeer summier.	

### 4 Inhoudelijke beoordeling

<b>Belangen- verstrengeling</b>	Geen van de medewerkers van het Secretariaat heeft een arbeidsrelatie gehad met de aanvrager die minder dan 5 jaar geleden is beëindigd of heeft andere belangen die mogelijk zouden kunnen leiden tot oneigenlijke beïnvloeding.
<b>Doelstelling</b> Doelstelling	<p>Citaat: Doel van het project is het toepassen van patch-clamp technieken voor de opheldering van mechanismen die een rol spelen bij neuropsychiatrische aandoeningen zoals de ziekte van Huntington. We willen dit doen door de karakteristieken van cellen van wild-type dieren te vergelijken met die van cellen gewonnen uit het voorgestelde diermodel van de ziekte van Huntington. Het project voorziet tevens in de mogelijkheid om nieuwe geneesmiddelen te testen in de context van deze mechanismen. Onderzocht zal worden of de gemeten verschillen tussen wild-type en diermodel kunnen worden gemoduleerd en welke rol de kanaal-activiteit speelt bij deze modulatie. Metingen kunnen worden uitgevoerd op het niveau van single channels, waarbij het effect van een potentieel geneesmiddel kan worden bepaald op de geleidbaarheid van één enkel specifiek membraan-eiwit (zie bijvoorbeeld: Fischer et al. (2008) Activation of the CFTR Cl<sup>-</sup> channel by trimethoxyflavone in vitro and in vivo. <i>Cell. Physiol. Biochem.</i> 22(5-6):685-92), maar ook op de connectiviteit tussen groepen cellen (zie bijvoorbeeld: Kroker et al. (2013) Restoring long-term potentiation impaired by amyloid-beta oligomers: comparison of an acetylcholinesterase inhibitor and selective neuronal nicotinic receptor agonists. <i>Brain Res. Bull.</i> 96:28-38).</p> <p>De aanvrager geeft aan (citaat): Hoewel ex-vivo elektrofysiologisch onderzoek niet de totale fysiologie van het proefdier reflecteert en dus geen uitspraak kan doen over werking van een experimentele stof in een intact organisme, kan het wel informatie opleveren over werkzaamheid en werkingsmechanisme van deze stof. Een belangrijk voordeel van deze techniek is dat het een aantoonbare verfijning en vermindering van aantal benodigde dieren oplevert.</p>



Wetenschappelijk en maatschappelijk belang	Citaat: Het voorgestelde onderzoek levert een belangrijke bijdrage aan het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen tegen neuropsychiatrische aandoeningen. Naar schatting 25% van de wereld bevolking krijgt in zijn leven te maken met aandoeningen zoals de ziekte van Parkinson, Huntington of Alzheimer, schizofrenie, of depressie (WHO). Ongeveer de helft van de volwassenen heeft een chronische ziekte die die in veel gevallen uiteindelijk ook de oorzaak is van het overlijden (70%) (NHC). Op dit moment zijn voor deze ziekten maar beperkt geneesmiddelen beschikbaar. Het is daarom van groot belang dat nieuwe farmaca worden ontwikkeld. Elektrofysiologisch onderzoek op het niveau van weefsel of cellen is een goede screeningsmethode voor de werkzaamheid van nieuwe geneesmiddelen, die samengaat met een high throughput en gebruik van relatief weinig proefdieren.
Onderbouwing wetenschappelijk en maatschappelijk belang	Het belang is voldoende uitgewerkt.
<b>Wetenschappelijke kwaliteit</b> Kwaliteit aanvragers en onderzoek	Het secretariaat heeft geen reden te twijfelen aan de kwaliteit van de aanvragers en het onderzoek.
<b>3V's</b> Vervangen	Citaat: Vervanging van deze experimenten is in beperkte mate mogelijk door gebruik te maken van cel-lijnen van cellen die de betrokken receptoren tot expressie brengen. Echter, wanneer het aankomt op het bestuderen van interacties tussen cellen in neuronale netwerken of de effecten van progressieve ziektebeelden, waarbij de expressie van bepaalde pathogene eiwitten (bijvoorbeeld een polyQ Huntingtine eiwit dat plaques vormt) een rol spelen is het niet mogelijk om dit in een volledig in-vitro model na te bootsen. In een dergelijk geval is toepassing van een ex-vivo model, waarin de neuronale connecties of het ziektebeeld zich hebben kunnen ontwikkelen, van groot belang.
Verminderen	Citaat: Vermindering van aantallen dieren in deze experimenten is mogelijk wanneer meerdere cellen of weefselplakjes (met relevante celtypes) kunnen worden geïsoleerd uit één dier en waarbij deze vervolgens lang genoeg in een goede conditie kunnen worden gehouden voor het uitvoeren van de diverse metingen. Door tussentijdse evaluatie van de meetgegevens kan het mogelijk zijn dat minder dieren nodig zijn dan vooraf werd verwacht op basis van de statistische (power-)analyse en het geschatte aantal metingen per dier. Wanneer er wordt gekeken naar naar één specifiek onderdeel van de pathofysiologie, wordt er een reductie in de variatie verwacht, waardoor statistisch relevante resultaten sneller kunnen worden bereikt. Daarnaast is het mogelijk om in één cel meerdere karakteristieken te bepalen (bijvoorbeeld rust-potentiaal, capaciteit en (geïnduceerde) vuurfrequentie).



Verfijnen	Citaat: Ex-vivo uitvoeren van de experimenten is impliciet een verfijning van de experimenten, aangezien de dieren van het verzamelen van de gegevens zelf geen negatieve gevolgen meer ondervinden. Wel kan er minimaal ongerief ontstaan ten gevolge van een eventuele toediening tijdens de voorbehandeling. Verfijning van de experimenten is mogelijk door een optimaal experimenteel protocol toe te passen waarbij de onderzoeker blind is voor de groep waaraan experimenten worden verricht (diermodel dan wel controle groep). Dit betekent dat een tweede persoon de gegevens uitwerkt om tevens te bepalen of er voldoende gegevens per groep beschikbaar zijn. Het Ex-vivo onderzoek van de experimentele stof verlaagt het risico op onnodige in-vivo testen van niet-actieve stoffen.
-----------	--

<b>Wettelijk vereist onderzoek</b> Indien ja, is er sprake van herhaling?	Er is sprake van wettelijk vereist onderzoek.
--	---

Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen: Cliënten die ons vragen de experimenten uit te voeren doen dit 1) vanwege onze expertise en 2) omdat de mogelijkheden om binnen de eigen instelling deze experimenten uit te voeren niet aanwezig zijn. Dit betekent dat deze experimenten vaak voor het eerst door ons worden uitgevoerd. De experimentele stoffen die worden onderzocht zijn dikwijls door de cliënt ontwikkeld en niet eerder met de bovengenoemde methoden onderzocht. Goede kennis van de literatuur en netwerken met toponderzoekers in het veld minimaliseren de kans op duplicaat experimenten. In bepaalde gevallen is echter ter validatie van een model of testmethode juist wel replicatie van eerder gepubliceerd werk nodig.

<b>Hergebruik</b>	Er is geen sprake van hergebruik van dieren.
-------------------	--

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	Ja	volgens de richtlijn.



Naam proef		
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	HEP: Worden niet verwacht	
	Ongerief: Terminaal  Matig Licht	

Citaat: De experimenten zelf zijn in principe terminaal. Toediening van de experimentele stof voor termineren is in principe licht ongerief voor de dieren. Wanneer diermodellen met intrinsiek ongerief worden ingezet zal het ongerief matig worden.

### 5 Samenvatting

Het projectvoorstel bevat voldoende informatie over het belang van het onderzoek, de strategie en de 3V's om tot een oordeel te kunnen komen. Hoewel het algemene doel van de projectaanvraag helder is, mist in de experimentele opzet informatie om effect op de dieren en dierenwelzijn goed navolgbaar te maken. Aan de aanvrager is gevraagd deze punten te verduidelijken. Dit staat besluitvorming niet in de weg.

De aanvrager geeft aan oog te hebben voor het gebruik van beide geslachten, maar dat waarschijnlijk het overgrote merendeel mannelijke dieren zullen zijn. Het Secretariaat heeft nadere onderbouwing gevraagd.

Het Secretariaat stelt voor de algemene voorwaarde artikel 10, lid 1 sub a, betreffende alternatieven, niet te stellen omdat in dit onderzoek al gebruik wordt gemaakt van alternatieve methodes.

### 6 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning

Het Secretariaat adviseert het DEC-advies te volgen en dit project toe te wijzen. Voorstel is om de vergunning te verlenen van 27 juni 2016 tot en met 10 juni 2021

Hierbij stelt het Secretariaat voor de volgende voorwaarden te stellen: Iedere 3 maanden, ingaande vanaf de startdatum van de vergunning, koppelt de aanvrager aan de CCD terug naar welke stoffen er onderzoek heeft plaatsgevonden. Omdat uit uw aanvraag niet blijkt welke stoffen u zal gaan onderzoeken, maar de uit te voeren handelingen wel omschreven zijn, is een voorwaarde opgenomen dat u de CCD moet terugkoppelen naar welke stoffen onderzoek plaats heeft gevonden.







**Van:** 5.1 lid2e  
**Aan:** 5.1 lid2e  
**Onderwerp:** RE: Aanvullingen 534  
**Datum:** dinsdag 28 juni 2016 09:25:43

---

Hoi 5.1 lid2e

Ik heb nog eens naar het dossier gekeken en naar mijn mening is het lastig om een vraag over de ziektemodellen te formuleren, anders dan al in de eerdere vragen en antwoorden naar voren zijn gekomen. Antwoord van de onderzoeker :

In veel gevallen zal waar mogelijk worden gewerkt met modellen waar nog geen symptomen zichtbaar zijn, omdat veel medicatie is gericht op preventieve behandeling. Kans op humane eindpunten op basis van diermodellen is gering 1 - 3%

En de voorwaarde van rapportage lijkt nogal dubbel om nogmaals naar de symptomen te vragen. Er wordt al geborgd dat het ongerief niet hoger dan matig kan zijn. Voeg dan toe aan de voorwaarde dat ook gerapporteerd wordt wanneer een ziektemodel toch meer ongerief heeft en welke maatregelen er dan voor de toekomst genomen worden en je bent er ook. Ik zou daar nog even met ger over bomen als ik jou was. Kunnen we evt ook vrijdag samen doen, Onzekerheid is inherent aan 5.1 lid2h en voor mijn gevoel hebben we deze al aardig ingedekt,

Gr 5.1 lid2e

5.1 lid2e

*Uitvoeringsexpert*

**Centrale Commissie Dierproeven**

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

.....  
Bezuidenhoutseweg 73 2594 AC Den Haag

Postbus 20401 2500 EK Den Haag  
.....

M 5.1 lid2e

Afwezig op vrijdag in de oneven weken

---

**Van:** 5.1 lid2e  
**Verzonden:** maandag 27 juni 2016 17:32



**Aan:** 5.1 lid2e  
**Onderwerp:** Aanvullingen 534

19

Hoi 5.1 lid2e

Naar aanleiding van de opmerkingen van de CCD heb ik een conceptmail in m'n conceptenmapje staan voor aanvraag 534. Het is erg kort opgeschreven, maar zou zo niet echt weten wat ik nog kan toevoegen... Wil je ernaar kijken??

Wat mij betreft mag je 'm ook versturen dinsdag, dan is ie maar vast weg. Anders doe ik het woensdag.

Alvast bedankt

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Met vriendelijke groeten,

5.1 lid2e

Uitvoeringsexpert

Dinsdag 28 juni ben ik vrij.

**Centrale Commissie Dierproeven**  
[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

.....  
Bezuidenhoutseweg 73 | 2594 AC | Den Haag  
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag  
.....

T: 070 - 378 64 14



Aanwezig: maandag t/m woensdag en vrijdag  
Donderdags ben ik vrij  
Denk om het milieu, niet alles hoeft geprint



**Van:** Peuter, ir. G. de (Ger)  
**Aan:** 5.1 lid2e  
**Onderwerp:** RE: Aanvullingen 534?  
**Datum:** vrijdag 1 juli 2016 13:13:02

24

ok

---

**Van:** 5.1 lid2e )  
**Verzonden:** vrijdag 1 juli 2016 13:11  
**Aan:** Peuter, ir. G. de (Ger)  
**Onderwerp:** RE: Aanvullingen 534?

23

Deze aanvraag is nog behoorlijk helder beschreven, zeker in vergelijking met die van 5.1 lid2a. Hoe we nu aanvraag 534 behandeld hebben, is ook wel de standaard hoe we met 5.1 lid2b aanvragen omgaan.

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Met vriendelijke groeten,  
5.1 lid2e  
Uitvoeringsexpert

**Centrale Commissie Dierproeven**  
[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

.....  
Bezuidenhoutseweg 73 | 2594 AC | Den Haag  
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag  
.....

T: 070 - 378 64 14

M: 5.1 lid2e

Aanwezig: maandag t/m woensdag en vrijdag  
Donderdags ben ik vrij  
Denk om het milieu, niet alles hoeft geprint

---

**Van:** Peuter, ir. G. de (Ger)  
**Verzonden:** vrijdag 1 juli 2016 12:40  
**Aan:** 5.1 lid2e  
**Onderwerp:** RE: Aanvullingen 534?

22

5.1 lid2e

Wil je nog even overleggen met 5.1 lid2a hoe dit zich verhoudt met aanvraag die zij mij vanochtend voorlegde.

Ger

---

**Van:** 5.1 lid2e )  
**Verzonden:** vrijdag 1 juli 2016 11:56  
**Aan:** Peuter, ir. G. de (Ger)



Onderwerp: Aanvullingen 534?

Hoi Ger,

Vorige week is aanvraag 534 in de vergadering besproken. Het gaat om een aanvraag van een **5.1 lid2e** waarbij diverse ziektemodellen gebruikt gaan worden. De CCD wilde deze aanvraag aanhouden, omdat de welzijnsconsequenties van de diverse modellen niet bekend zijn. Daarna mocht het secretariaat de aanvraag verder afhandelen.

Nu heeft de aanvrager enkele vragen beantwoord, vlak voor de vergadering. Deze e-mail was dan ook geen onderdeel van de dossierstukken. Aan de telefoon heb ik enkele aspecten hieruit benoemd. Met betrekking tot het welzijn van de dieren staat in deze mail: "In veel gevallen zal waar mogelijk worden gewerkt met modellen waar nog geen symptomen zichtbaar zijn, omdat veel medicatie is gericht op preventieve behandeling."

In combinatie met het feit dat het ongerief sowieso niet boven 'matig' mag komen, omdat dat in hun aanvraag staat beschreven, lijkt dit voldoende gedekt.

Mijn voorstel is dan ook om de aanvraag te vergunnen zonder nog verder om aanvullingen te vragen en hierbij de volgende aangepaste voorwaarden te stellen:

- Voor 60% - 80% van de studies geldt dat toediening van de experimentele stof acuut plaatsvindt. De overige studies, met (sub)chronische toediening, worden met de IvD afgestemd, waarbij de IvD ervoor zorg draagt dat het ongerief, als gevolg van de toegediende stof of het ziektemodel, niet hoger wordt dan ingeschat (licht of matig).
- Iedere 3 maanden, ingaande vanaf de startdatum van de vergunning, koppelt de aanvrager aan de CCD terug naar welke type stoffen er onderzoek heeft plaatsgevonden en in welk ziektemodel.

Kan je je hierin vinden?

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Met vriendelijke groeten,

**5.1 lid2e**

Uitvoeringsexpert

**Centrale Commissie Dierproeven**  
[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

.....  
Bezuidenhoutseweg 73 | 2594 AC | Den Haag  
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag  
.....

T: 070 - 378 64 14

M: **5.1 lid2e**

Aanwezig: maandag t/m woensdag en vrijdag  
Donderdags ben ik vrij  
Denk om het milieu, niet alles hoeft geprint





> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

5.1 lid2h

5.1 lid2e

5.1 lid2h



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

Onze referentie  
Aanvraagnummer  
AVD 5.1 lid2h 016534  
Bijlagen

1

Datum 1 juli 2016 04 JUL 2016  
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 5.1 lid2e

Op 2 mei 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen" met aanvraagnummer AVD 5.1 lid2h 2016534. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 14 en 21 juni 2016 heeft u uw aanvraag aangevuld. Er is gevraagd naar de verhouding van ratten en muizen, naar het ongerief van de dieren, de handelingen, humane eindpunten en gebruik van beide geslachten.

#### Beslissing

Wij keuren uw aanvraag, inclusief de aanvullingen, goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. Omdat uit uw aanvraag niet blijkt welke stoffen u zal gaan onderzoeken, maar de uit te voeren handelingen wel omschreven zijn, is een voorwaarde opgenomen dat u de CCD moet terugkoppelen naar welke soort stoffen onderzoek plaats heeft gevonden. U kunt met uw project "Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen" starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 juli 2016 tot en met 10 juni 2021.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

#### Procedure

Wij hebben advies gevraagd bij de 5.1 lid2h  
Dit advies is opgesteld op 7 juni 2016. 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. Het DEC-advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

#### **Bezwaar**

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

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

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

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

#### **Meer informatie**

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

5.1 lid 2e

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:

Adres:

Postcode en plaats:

Deelnemersnummer:

5.1 lid2h

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 juli 2016 tot en met 10 juni 2021, voor het project "Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen" met aanvraagnummer AVD 5.1 lid2h 2016534, volgens advies van Dierexperimentencommissie 5.1 lid2h

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is 5.1 lid2e

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 2 mei 2016
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 7 juni 2016;
  - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 7 juni 2016;
  - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 7 juni 2016, ontvangen op 7 juni 2016.
  - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 14 en 21 juni 2016

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	Muizen (Mus musculus) /	720	Terminal  Matig Licht	

### Voorwaarden

**Op grond van artikel 10a1 lid 2 Wod zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen**

Voor 60% - 80% van de studies geldt dat toediening van de experimentele stof acuut plaatsvindt. De overige studies, met (sub)chronische toediening, worden met de IvD afgestemd, waarbij de IvD ervoor zorg draagt dat het ongerief, als gevolg van de toegediende stof of het ziektemodel, niet hoger wordt dan ingeschat (licht of matig).

Iedere 3 maanden, Ingaande vanaf de startdatum van de vergunning, koppelt de aanvrager aan de CCD terug naar welke type stoffen er onderzoek heeft plaatsgevonden en in welk ziektemodel.



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

#### **Einde van een dierproef**

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

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

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

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

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



# Format DEC-advies

---

*Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de bijbehorende toelichting, waarin elke stap in het beoordelingsproces wordt toegelicht*

## A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer (Interne **5.1 lid2h**; AVD **5.1 lid2h** **2016534**)
2. Titel van het project: **Ex vivo electrofysiologische weefselanalyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen**
3. Titel van de NTS: **Gebruik van weefsel en cellen voor het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen met behulp van gevoelige bio-electrische metingen**
4. Type aanvraag:
  - nieuwe aanvraag projectvergunning
  - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
  - naam DEC: **5.1 lid2h**
  - telefoonnummer contactpersoon **5.1 lid2h**
  - mailadres contactpersoon: **5.1 lid2e**
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
  - ontvangen door DEC: **03-05-2016**
  - aanvraag compleet: **03-05-2016**
  - in vergadering besproken: **12-05-2016**
  - anderszins behandeld: **03-06-2016**
  - termijnonderbreking(en) van / tot **13-05-2016 tot 15-05-2016**
  - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen **n.v.t.**
  - aanpassing aanvraag: **15-05-2016**
  - advies aan CCD: **07-06-2016**
7. Eventueel horen van aanvrager: **n.v.t.**
  - Datum
  - Plaats
  - Aantal aanwezige DEC-leden



- Aanwezige (namens) aanvrager
  - Strekking van de vraag / vragen
  - Strekking van het (de) antwoord(en)
  
  - Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag
8. Correspondentie met de aanvrager
- Datum
  - Strekking van de vraag / vragen
  - **1. verzocht werd nader te verduidelijken waarom er bij dit project drie categorieën (fundamenteel; translationeel of toegepast; wettelijk vereist) van toepassing zijn**
  - **2. de titel van het project geeft specifiek aan dat het gaat om de electrofysiologische weefselanalyse *ex vivo* ten behoeve van geneesmiddelenonderzoek. Verzocht werd in de uitwerking de voorgenomen ziektemodellen duidelijker en meer expliciet te beschrijven, zo mogelijk inclusief relevante literatuurreferenties.**
  - **3. naast genetische diermodellen wordt ook het 6-hydroxy-dopamine laesie-model genoemd voor de ziekte van Parkinson. Verzocht werd aan te geven of dat model nog opgezet en geïmplementeerd moet worden – en zo niet, wat de ervaringen zijn, ook m.b.t. het ongerief.**
  - **4. verzocht werd om nadere onderbouwing van de dieraantallen, daarbij mede betreffende het aantal weefselslices per dier waaraan metingen gedaan kunnen worden.**
  - Datum antwoord
  - Strekking van het (de) antwoord(en)
  - **De aanvrager heeft alle vragen met grote zorgvuldigheid beantwoord en de aanvraag conform aangepast.**
  - De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag
9. 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



- - Expert advies

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

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet): **ja**
2. De aanvraag betreft een **nieuwe aanvraag**
3. De DEC is competent om hierover te adviseren: **ja**
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering: **nv.t.**

## **C. Beoordeling (inhoud):**

1. Het project is:
  - uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord
  - uit onderwijskundig oogpunt verantwoord
  - uit het oogpunt van productiedoelinden verantwoord
  - wettelijk vereist
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en): **ja**
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een **substantieel** belang
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project: **ja**
5. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd: **n.v.t.**
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd: **ja**
7. Er zijn **geen** methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de



**vermindering van dierproeven. Inherent aan ex vivo onderzoek is dat doorgaans meerdere metingen aan het weefsel of orgaan (c.q. weefsels of organen) van hetzelfde dier mogelijk zijn – en dus proefdier besparend is.** Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt: **ja**

9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. **Electrofysiologie ex vivo aan weefsel of geïsoleerde cellen is een zeer verfijnde activiteit.** Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd: **ja**

## **D. Ethische afweging**

**Analyse van de werking van geneesmiddelen aan de hand van electrofysiologische parameters van de celmembranen ex vivo – d.w.z. in weefsels/cellen van voorbehandelde dieren – is een nieuwe benadering om de functionele interacties van geneesmiddelen met membraan-eiwitten tijdsafhankelijk en dosisafhankelijk te bestuderen. Gebruik wordt gemaakt van (meest genetische) diermodellen van de ziekten van Alzheimer, Huntington en Parkinson, van cystische fibrose en van polycystische nierziekte. Deze <sup>5.1 lid 2f</sup> die een internationale reputatie heeft (vooral) op het gebied van microdialyse in vivo (ook in combinatie met electrofysiologische metingen) breidt hiermee het arsenaal aan technieken zodanig uit dat interpretatie tot op het niveau van individuele ion kanalen mogelijk wordt.**

**Het project is uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord en het is waarschijnlijk dat de doeleinden worden gehaald. De DEC oordeelt dan ook dat de schade in de vorm van lijden, pijn en angst bij de dieren wordt gerechtvaardigd door het verwachte resultaat. Zij weegt daarbij**



10 december 2014

**mee dat gezien de ernst van de aandoeningen het maatschappelijk belang om de lokale aangrijpingspunten van de werking van (nieuwe) farmaca te analyseren evident is alsmede dat vanwege het *ex vivo* karakter van de experimenten het ongerief beperkt is.**

## **E. Advies**

1. Advies aan de CCD

**X** De DEC adviseert de vergunning te verlenen

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op **consensus**.



5.1 lid2e

**Van:** 5.1 lid2e  
**Verzonden:** dinsdag 5 juli 2016 11:07  
**Aan:** Info-zbo  
**Onderwerp:** Re: Beschikking AVD 5.1 lid2e 2016534  
**Categorieën:** Dossier: 5.1 lid2e

26

Geachte 5.1 lid2e

Dank voor deze vergunning. Ik zag dat de vergunning alleen is afgegeven voor muizen (zie tabel). Uitgaande van de rest van de vergunning en de aanvraag (en het feit dat er nog een / achter de muizen staat) denk ik dat dit een typografische fout is. Is het mogelijk deze te corrigeren?

Vriendelijk bedankt en vriendelijke groeten,  
5.1 lid2e

Verzonden van mijn HTC

----- Bericht beantwoorden -----

**Van:** "Info-zbo"  
**Aan:** 5.1 lid2e  
**Onderwerp:** Beschikking AVD 5.1 lid2e 016534  
**Datum:** ma, jul. 4, 2016 15:24

Geachte meneer, mevrouw,  
Bijgaande brief is ook per post verzonden.

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Met vriendelijke groeten,  
**Centrale Commissie Dierproeven**  
[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

T: 0900 – 28 000 28 (10 ct/min)  
E: info@zbo-ccd.nl





> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

5.1 lid2h

5.1 lid2e

5.1 lid2h



Centrale Commissie  
Dierproeven

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
www.centralecommissiedierproeven.nl

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)

Info@zbo-ccd.nl

Onze referentie  
AVD 5.1 lid2h 016534

Uw referentie

Bijlagen

Datum 6 juli 2016

Betreft Correctie beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte 5.1 lid2h

Op 2 mei 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project 'Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen' met aanvraagnummer AVD 5.1 lid2h 016534.

#### Beslissing

Op 4 juli 2016 hebben wij u de beschikking en vergunning van uw aanvraag toegezonden. Op 5 juli 2016 heeft de verantwoordelijk onderzoeker contact met ons opgenomen, omdat de diersoort niet correct is.

In de vergunning staat 720 muizen genoemd, terwijl in de aanvraag 720 muizen en ratten staat beschreven.

Zoals in de beschikkingsbrief van 4 juli 2016 genoemd, hebben wij uw aanvraag beoordeeld. Bij de beoordeling van uw aanvraag hebben wij de diersoort zoals genoemd in uw aanvraag meegenomen. De aan u verstuurd vergunning bevat dus een kennelijke verschrijving en kan gecorrigeerd worden naar 720 muizen en ratten.

Voor het overige blijft het besluit van 4 juli 2016 ongewijzigd.

Deze brief dient u bij uw vergunning te voegen.

#### 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 gegevens in het colofon.

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 spoedelijk belang.



**Datum**  
6 juli 2016

**Onze referentie**  
**Aanvraagnummer**  
AVD 16534

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

**Meer informatie**

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

De Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze:

**5.1 lid 2e**

Ir. G. de Peuter  
Algemeen Secretaris

Dit besluit is genomen met inachtneming van het Besluit mandaat, volmacht en machtiging van de Centrale Commissie Dierproeven CCD 2014 zoals de Centrale Commissie Dierproeven heeft vastgesteld op 19 december 2014, ref 2014-04 en is gepubliceerd in de Staatscourant van 2 januari 2015, Nr. 163



5.1 lid2e

**Van:** info@zbo-ccd.nl  
**Verzonden:** woensdag 6 juli 2016 14:43  
**Aan:** 5.1 lid2h |  
**Onderwerp:** Terugkoppeling over projectvergunningaanvraag AVD 5.1 lid2h 2016534

28

Geachte 5.1 lid2h,

Op 02-05-2016 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project 'Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen' met aanvraagnummer AVD 5.1 lid2h 2016534.

De CCD heeft de aanvrager aanvullende vragen gesteld. Er is gevraagd naar de verhouding van ratten en muizen, naar het ongerief van de dieren, de handelingen, humane eindpunten en gebruik van beide geslachten.

De CCD heeft besloten uw advies te volgen en de vergunning toe te wijzen. De aanvrager en verantwoordelijk onderzoeker zijn hierover ingelicht.

Aanvullend zijn de volgende voorwaarden gesteld:

Voor 60% - 80% van de studies geldt dat toediening van de experimentele stof acuut plaatsvindt. De overige studies, met (sub)chronische toediening, worden met de IvD afgestemd, waarbij de IvD ervoor zorg draagt dat het ongerief, als gevolg van de toegediende stof of het ziektemodel, niet hoger wordt dan ingeschat (licht of matig).

Iedere 3 maanden, ingaande vanaf de startdatum van de vergunning, koppelt de aanvrager aan de CCD terug naar welke type stoffen er onderzoek heeft plaatsgevonden en in welk ziektemodel.

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven  
[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

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

T: 0900 2800028  
E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)



Naam instelling: 5.1 lid2h

Periode waar terugkoppeling  
betrekking op heeft: 2017

29

Deelnemersnummer:

Terugkoppeling betreft: AV 5.1 lid2h 016534

Titel project: Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen

Titel Bijlage Dierproeven	Diersoort	Aantal	Ongerief	Titel studie	Terugkoppeling volgens de voorwaarde in de vergunning			
					type stof	ziekte model	Terugkoppeling 3:	Terugkoppeling 4:
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	1	44	2	5.1 lid2h	This compound alters intracellular signaling mechanisms that are responsible for modulating cell membrane channel function and transcription processes*	Ziekte van Huntington		



**Van:** 5.1 lid2e [redacted] namens Info-zbo  
**Aan:** 5.1 lid2e [redacted]  
**Onderwerp:** Ontvangstbevestiging terugkoppeling AVD 2016534  
**Datum:** vrijdag 23 februari 2018 15:22:00

---

Geachte heer/mevrouw,

Op 17 januari 2018 hebben wij de terugkoppeling betreffende uw projectvergunning dierproeven ontvangen voor de periode 2017. Het gaat om uw project "Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen" met aanvraagnummer AVD 2016534

Uw terugkoppeling is voldoende. De voorwaarde zoals gesteld in de vergunning wordt niet gewijzigd.

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Met vriendelijke groeten,

Namens de Centrale Commissie Dierproeven

5.1 lid2e [redacted]

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

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

.....  
T: 0900 – 28 000 28 (10 ct/min)

E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)



# 5.1 lid2h

31

Centrale Commissie Dierproeven  
t.a.v. 5.1 lid2e  
Postbus 93110  
2509 AC Den Haag

Date: 27 Mei 2019  
Our reference: terugkoppeling bijzondere voorwaarde projectvergunningen Wod  
Vergunningen: AVD 5.1 lid2h 2016534, AVD 5.1 lid2h en AVD 5.1 lid2h 015341

Geachte 5.1 lid2e

Hierbij stuur ik u de terugkoppeling op de bijzondere voorwaarden gesteld in de bovengenoemde vergunningen. Allereerst wil ik in dit begeleidend schrijven nogmaals mijn excuses aanbieden voor de vertraging in het aanleveren van deze gegevens en u danken voor het getoonde begrip in deze. Naar aanleiding van de briefwisseling en ons telefonisch overleg hebben wij onze interne procedures aangepast om herhaling in de toekomst te voorkomen. Met uw goedvinden, zullen wij u vanaf nu jaarlijks voor 1 april (in parallel met de rapportage aan de NWWA) een terugkoppeling sturen. Deze terugkoppeling zal dan alle vergunningen geldend voor 5.1 lid2h over het voorgaande jaar omvatten. Wij gaan ervan uit dat wij op deze wijze voldoen aan de door u gestelde bijzondere voorwaarden in de vergunning.

In de bijlage bij deze brief vindt u een overzicht van de door u gevraagde gegevens voor ieder van de specifieke vergunningen over de periode van 1 januari 2018 tot en met 31 december 2018. Met betrekking tot de stofnamen verwijs ik u naar ons schrijven op 16 mei 2019 met betrekking tot projectvergunning AVD 5.1 lid2h

Tijdens het telefoongesprek waar ik hierboven aan refereerde heb ik ook even kort aangegeven dat uw schrijven (van 26 april 2019) met betrekking tot vergunning AVD 5.1 lid2h 2016534 mij via nogal een omweg heeft bereikt. Wij zouden u willen verzoeken, om in de toekomst alle correspondentie met betrekking tot vergunningen verleend aan de voormalig vergunninghouder 5.1 lid2h voortaan direct te richten aan de huidige vergunninghouder 5.1 lid2h. Deze zal er zorg voor dragen dat deze op de juiste wijze intern wordt verspreid. Voor de volledigheid vermeld ik hier nog even alle relevante vergunningen nummers: AVDxxxxx2015156, AVDxxxxx2015341, AVDxxxxx2016533, AVDxxxxx2016534 en AVDxxxxx2016779.

Mochten over de terugkoppeling of adressering nog vragen zijn, dan horen wij dit graag. U kunt zich hiervoor schriftelijk wenden tot de vergunninghouder of direct telefonisch tot mij.

Met vriendelijke groeten, namens de Wod vergunninghouder,

5.1 lid2e

5.1 lid2h

5.1 lid2e

5.1 lid2h

5.1 lid2h



# Vertrouwelijk

Terugkoppeling **5.1 lid2h** voorwaarde

Periode waar terugkoppeling

betrekking op heeft: 2018

Naam instelling:

**5.1 lid2h**

Deelnemersnummer:

**5.1 lid2h**

Terugkoppeling betreft:

AVD **5.1 lid2h** 2016534

Titel project: Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van

Titel Bijlage Dierproeven	Diersoort	Aantal	Ongerief	Titel studie	5.1 lid2h	
					type stof	ziekte model
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	1	4	2	5.1 lid2h	TRPA1 agonist	TRPA1 is betrokken bij neuronale pijn sensatie
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	2	39	2		TRPA1 agonist	TRPA1 is betrokken bij neuronale pijn sensatie



5.1 lid2h

Aan: Centrale Commissie Dierproeven  
Postbus 93118  
2509 AC Den Haag

32

Van: 5.1 lid2e 5.1 lid2h  
5.1 lid2h

Betreft: Terugkoppeling bijzonder voorwaarde Projectvergunningen AVD 5.1 lid2h 015341,  
AVD 5.1 lid2h 016534 en AVD 5.1 lid2h

Datum: 09 april 2020

Geachte CCD,

Gelieve hierbij te ontvangen de terugkoppeling van de bijzondere voorwaarde(n) verbonden aan onze vergunningen voor de projecten AVD 5.1 lid2h 015341, AVD 5.1 lid2h 016534 en AVD 5.1 lid2h

In de drie bijlagen treft u een overzicht van de gevraagde gegevens betreffende de dierproeven uitgevoerd in de afgelopen kalenderperiode, 1 januari 2019 tot en met 31 december 2019, onder deze vergunningen. In de overzichten hebben wij –waar van toepassing- per studie aangegeven welke diersoort het betreft, het aantal gebruikte dieren en bijbehorend ongerief, alsmede het type teststof, type dierproef, ziektemodel of ziektebeeld.

Met betrekking tot de voorwaarde over het vrijgeven van informatie over type/soort geteste stoffen onder de projectvergunning: alle projecten onder deze projectvergunningen worden uitgevoerd onder contracten die afgesloten zijn tussen 5.1 lid2h en onze opdrachtgevers. Geheimhouding en/of vertrouwelijkheid wordt altijd opgenomen in een Master Services Agreement, Algemene Voorwaarden of Geheimhoudingsverklaringen door onze opdrachtgevers. Wij moeten hier als opdrachtnemer aan voldoen en onze opdrachtgevers hechten veel waarde aan deze geheimhouding. Deze geheimhoudingsclausules bepalen dat wij geen vertrouwelijke informatie kunnen of mogen delen met derden zonder toestemming van een opdrachtgever. De gegevens betreffende geteste stoffen vallen onder de vertrouwelijke informatie.

Vertrouwende u hiermee voldoende te hebben geïnformeerd, verblijf ik met vriendelijke groet,

5.1 lid2e

5.1 lid2e, 5.1 lid2h



# Vertrouwelijk

Terugkoppeling **5.1 lid 2h**-voorwaarde

Periode waar terugkoppeling

betrekking op heeft: 2019

Naam instelling:

**5.1 lid 2h**

Deelnemersnummer:

**5.1 lid 2h**

Terugkoppeling betreft:

AVD **5.1 lid 2h** 2016534

Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling

Titel project: van nieuwe geneesmiddelen

Titel Bijlage Dierproeven	Diersoort	Aantal	Ongerief	Studie Nummer / Titel	Terugkoppeling volgens de voorwaarde in de vergunning	
					type stof	ziekte model
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	1	12	1	<b>5.1 lid 2h</b>	geen teststof	neuroinformatie model: mechanistische verklaring van ontwikkeling van het CZS
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	2	12	1		protease inhibitors van natuurlijke oorsprong	(chronische) neuronale pijn



5.1 lid2e

**Van:** 5.1 lid2e  
**Verzonden:** dinsdag 8 december 2020 10:58  
**Aan:** Info-zbo  
**Onderwerp:** RE: [External]: Terugkoppeling 2019 AVD 5.1 lid2e 2026534  
**Categorieën:** Terugkoppeling

37

Ha 5.1 lid2e

Lijkt me 5.2 lid1

Ohja, ik zou 5.2 lid1

Groet!

---

**Van:** Info-zbo  
**Verzonden:** maandag 7 december 2020 18:26  
**Aan:** 5.1 lid2e  
**Onderwerp:** FW: [External]: Terugkoppeling 2019 AVD 5.1 lid2e 2026534

36

Hoi 5.1 lid2e,  
Dit betreft een terugkoppeling waar ze in hun terugkoppeling beschreven dat ze een experiment naar neurologische pijn hebben gedaan. We hebben ze gevraagd waarom zij vonden dat dit onder deze vergunning met doelstelling neuropsychiatrische aandoeningen zou kunnen vallen. Ze hebben hieronder onderbouwd waarom ze dat dachten te mogen doen. 5.2 lid1

5.1 lid2e

---

**Van:** 5.1 lid2e  
**Verzonden:** vrijdag 14 augustus 2020 12:48  
**Aan:** info@zbo-ccd.nl  
**CC:** 5.1 lid2e  
**Onderwerp:** RE: [External]: Terugkoppeling 2019 AVD 5.1 lid2e 2026534

35

Beste ...,

Graag zou ik u als voorzitter van de IvD willen aangeven dat wij positief hebben geadviseerd over de uitvoering van deze experimenten op basis van de volgende overweging:

Het doel van de vergunning is als volgt beschreven: "Doel van het project is het toepassen van patch-clamp technieken voor de opheldering van mechanismen die een rol spelen bij neuropsychiatrische aandoeningen zoals de ziekte van Huntington."

Het Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde definieert neuropsychiatrische aandoeningen in 2009 als: "ziektebeelden waarbij zowel neurologische als psychiatrische symptomen optreden."



Wij waren daarom van mening dat alle onderzoeken naar ziektes met neurologische symptomen alsook psychiatrische symptomen vallen onder de beschreven vergunning. In geval van (chronische-) pijn is het zo dat naast de neurologische verschijnselen (de aanhoudende pijn) de aandoening vaak leidt tot aanvullende psychiatrische symptomen. In de praktijk worden deze laatste vaak behandeld met aanvullende geneesmiddelen zoals bijvoorbeeld antidepressiva.

De gebruikte term suggereert mogelijk dat ook psychiatrische symptomen zouden kunnen worden bestudeerd. De techniek die wordt gebruikt bij dit type onderzoek is daartoe niet geschikt. Eventueel kan het zinvol zijn om via een melding de tekst van de vergunning aan te passen naar "neurologische aandoeningen", zodat het helder is dat de psychiatrische symptomen niet worden onderzocht.

Met vriendelijke groeten,

5.1 lid2e

5.1 lid2e, 5.1 lid2h

5.1 lid2h

From: Info-zbo <info@zbo-ccd.nl>  
Sent: Monday, July 27, 2020 12:43 PM  
To: Info-zbo <zbo-ccd@rvo.nl> 5.1 lid2e  
Subject: [External]: Terugkoppeling 2019 AV 5.1 lid2h 2026534

34

Geachte 5.1 lid2e,  
De CCD heeft uw terugkoppeling over 2019 bekeken en heeft nog een vraag betreffende deze terugkoppeling.

U heeft een studie uitgevoerd naar (chronische) neuronale pijn. Het projectvoorstel beschrijft de toepassing van patch-clamp technieken voor de opheldering van mechanismen die een rol spelen bij neuropsychiatrische aandoeningen. Neuronale pijn lijkt niet een neuropsychiatrische aandoening. Kunt u onderbouwen waarom u deze studie heeft uitgevoerd onder deze vergunning?

Met vriendelijke groet,

Namens:  
Centrale Commissie Dierproeven

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

Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag

T: 0900 2800028

E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)



Van: Info-zbo

Verzonden: dinsdag 19 mei 2020 16:36

Aan: 5.1 lid2e

Onderwerp: Ontvangstbevestiging terugkoppeling.

33

Geachte 5.1 lid2e,

Op 9 april 2020 hebben wij de terugkoppeling betreffende uw projectvergunning dierproeven ontvangen voor de periode 2019. Het gaat om uw project "Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen" met aanvraagnummer AVD 5.1 lid2e 2016534.

Uw terugkoppeling zal binnenkort door de CCD worden besproken. Kort daarna kunt u een terugkoppeling verwachten.

Met vriendelijke groet,

5.1 lid2e

Centrale Commissie Dierproeven [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag

T: 0900 2800028

E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)

## HTML Disclaimer Title

Tekst aangepast Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is toegezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen. De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message. The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages. <

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

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

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message. The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.





> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

§ 1 lid 2h  
t.a.v. § 1 lid 2e  
§ 1 lid 2h

**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 93118  
2509 AC Den Haag  
www.centralecommissiedierproeven.nl  
T 0900-28 000 28 (10 ct /min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**  
Terugkoppelin § 1 lid 2h voorwaarde  
AVD § 1 lid 2h 16534

Datum 16 december 2020  
Betreft Terugkoppeling § 1 lid 2h voorwaarde 2019

Geachte § 1 lid 2e

Op 9 april 2020 hebben wij de terugkoppeling betreffende uw projectvergunning dierproeven ontvangen voor de periode 2019. Het gaat om uw project 'Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen' met aanvraagnummer AVD § 1 lid 2h 2016534.

Op 27 juli 2020 hebben wij u een verhelderende vraag gesteld. U heeft tijdig gereageerd.

Uw terugkoppeling is voldoende. De vergunning wordt niet gewijzigd.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven



**5.1 lid2h**

Aan: Centrale Commissie Dierproeven  
Postbus 93118  
2509 AC Den Haag

Van: **5.1 lid2e**  
**5.1 lid2h**

Betreft: Terugkoppeling bijzondere voorwaarde Projectvergunningen AVD **5.1 lid2h** 016534 en  
AVD **5.1 lid2h**

Datum: 15 april 2021

Geachte CCD,

Gelieve hierbij te ontvangen de terugkoppeling van de bijzondere voorwaarde(n) verbonden aan onze vergunningen voor de projecten AVD **5.1 lid2h** 016534 en AVD **5.1 lid2h**

In de twee bijlagen treft u een overzicht van de gevraagde gegevens betreffende de dierproeven uitgevoerd in de afgelopen kalenderperiode, 1 januari 2020 tot en met 31 december 2020, onder deze vergunningen. In de overzichten hebben wij –waar van toepassing- per studie aangegeven welke diersoort het betreft, het aantal gebruikte dieren en bijbehorend ongerief, alsmede het type teststof, type dierproef, ziektemodel of ziektebeeld.

Met betrekking tot de voorwaarde over het vrijgeven van informatie over type/soort geteste stoffen onder de projectvergunning: alle projecten onder deze projectvergunningen worden uitgevoerd onder contracten die afgesloten zijn tussen **5.1 lid2h** en onze opdrachtgevers. Geheimhouding en/of vertrouwelijkheid wordt altijd opgenomen in een Master Services Agreement, Algemene Voorwaarden of Geheimhoudingsverklaringen door onze opdrachtgevers. Wij moeten hier als opdrachtnemer aan voldoen en onze opdrachtgevers hechten veel waarde aan deze geheimhouding. Deze geheimhoudingsclausules bepalen dat wij geen vertrouwelijke informatie kunnen of mogen delen met derden zonder toestemming van een opdrachtgever. De gegevens betreffende geteste stoffen vallen onder de vertrouwelijke informatie.

Wellicht ten overvloede melden wij u dat voor AVD **5.1 lid2h** 015341 m.i.v. 2020 geen jaarlijkse terugkoppeling is vereist.

Vertrouwende u hiermee voldoende te hebben geïnformeerd, verblijf ik met vriendelijke groet,

**5.1 lid2e****5.1 lid2e, 5.1 lid2h**



# Vertrouwelijk

Terugkoppeling <sup>5.1 lid2h</sup> voorwaarde  
 Periode waar terugkoppeling  
 betrekking op heeft: 2020

Naam instelling:

5.1 lid2h

Deelnemersnummer:

Terugkoppeling betreft:

AV <sup>5.1 lid2h</sup> 16534

Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling  
 Titel project: van nieuwe geneesmiddelen

Titel Bijlage Dierproeven	Diersoort	Aantal	Ongerief	Titel studie	Terugkoppeling volgens de voorwaarde in de vergunning	
					type stof	ziekte model
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	1	10	2	5.1 lid2h	geen teststof	Alzheimer
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	1	11	2		Reuptake inhibitor	Depression
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	1	10	2		Reuptake inhibitor	Depression
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	1	12	2		Reuptake inhibitor	Depression
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	2	13	2		geen teststof	Pain
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	2	11	2		Channel activator	Pain
Ex-vivo elektrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen	2	4	2		Analgeticum	Pain

20 APR 2021





> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

5.1 lid2h  
t.a.v. 5.1 lid2a  
5.1 lid2h

**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 93118  
2509 AC Den Haag  
www.centralecommissiedierproeven.nl  
T 0800 - 7890 789  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**

Terugkoppeling 5.1 lid2h  
AV 5.1 lid2h 26534

Datum 3 juni 2021  
Betreft Terugkoppeling 5.1 lid2h voorwaarde 2020

Geachte 5.1 lid2e

Op 15 april 2021 hebben wij de terugkoppeling betreffende uw projectvergunning dierproeven ontvangen voor de periode 2020. Het gaat om uw project "Ex-vivo electrofysiologische weefsel analyse ten behoeve van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen" en aanvraagnummer AVD 5.1 lid2h 016534. Uw terugkoppeling zal binnenkort door de CCD worden besproken. Uw terugkoppeling is voldoende. De vergunning wordt niet gewijzigd.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven