

Inventaris Wob-verzoek W21-04									
nr.	document NTS20186344	wordt verstrekt				weigeringsgronden			
		reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
1	Projectaanvraag, d.d. 30 augustus 2018				x		x	x	
2	Projectvoorstel, d.d. 30 augustus 2018				x		x	x	
3	Bijlage dierproeven 1				x			x	
4	Bijlage dierproeven 2				x			x	
5	Bijlage dierproeven 3				x		x	x	
6	NTS			x					
7	Acceptatiebrief, d.d. 31 augustus 2018				x		x	x	
8	E-mail met betaalgegevens, d.d. 31 augustus 2018				x			x	
9	Begeleidende e-mail bij ontvangstbevestiging, d.d. 31 augustus 2018				x		x	x	
10	Ontvangstbevestiging, d.d. 31 augustus 2018				x		x	x	
11	Interne e-mail nieuwe aanvraag, d.d. 31 augustus 2018				x		x	x	
12	E-mail van CCD aan DEC met adviesverzoek, d.d. 31 augustus 2018				x			x	
13	E-mail van CCD aan vergunninghouder met kennisgeving adviesverzoek DEC, d.d. 31 augustus 2018				x		x	x	
14	E-mail van DEC aan CCD met bevestiging ontvangst adviesverzoek, d.d. 3 september 2018				x		x	x	
15	E-mail van CCD aan DEC met reactie verwerking, d.d. 3 september 2018				x		x	x	
16	E-mail van CCD aan DEC met verzoek statusupdate, d.d. 23 november 2018				x		x	x	
17	E-mail van DEC aan CCD met statusupdate, d.d. 23 november 2018				x		x	x	
18	E-mail van CCD aan DEC met reactie op statusupdate, d.d. 23 november 2018				x		x	x	



Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

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

1 Gegevens aanvrager

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

Ja > Vul uw deelnemernummer in
 Nee > U kunt geen aanvraag doen

1.2 Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.

Naam instelling of organisatie
 Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde
 KvK-nummer
 Straat en huisnummer
 Postbus
 Postcode en plaats
 IBAN

10.2.g
 10.2.e
 10.2.g

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.

Tenaamstelling van het rekeningnummer

1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.

(Titel) Naam en voorletters
 Functie
 Afdeling
 Telefoonnummer
 E-mailadres

10.2.e
 10.2.e
 Immunobiologie
 Dhr. X Mw.

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

(Titel) Naam en voorletters
 Functie
 Afdeling
 Telefoonnummer
 E-mailadres

10.2.e
 10.2.e
 Immunobiologie
 10.2.e
 Dhr. X Mw.

- 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 | 10.2.e | X Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie | 10.2.e | |
| Afdeling | Animal Science | |
| Telefoonnummer | + | |
| E-mailadres | 10.2.e | |
- 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 | 01 - 11 - 2018 |
| Einddatum | 01 - 11 - 2023 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe therapieën voor multipelle sclerose
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe kandidaat-geneesmiddelen voor multipelle sclerose
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|--------|
| Naam DEC | 10.2.g |
| Postadres | 10.2.g |
| E-mailadres | 10.2.g |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1187 Lege
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
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
- bijlage 1, 2 en 3 beschrijving dierproeven.

6 Ondertekening

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

Centrale Commissie
 Dierproeven
 Postbus 20401
 2500 EK Den Haag

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

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

Naam

10.2.e

Functie

Plaats

10.2.g

Datum

30-08-2018

Handtekening

10.2.e



Format Projectvoorstel dierproeven

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

1 Algemene gegevens

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

10.2.g

Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe therapieën in het resus makaak model voor multipale sclerose

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.

U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.

- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

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

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

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

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

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

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

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

Behandeling: Op dit moment zijn er 14 therapieën officieel goedgekeurd voor RR-MS. Dit zijn biologicals als IFN-beta en fingolimod en antilichamen gericht tegen B-cellen (zoals rituxumab) of tegen de migratie van lymfocyten naar de hersenen (zoals natalizumab). Deze therapieën remmen met name de ontstekingsactiviteit van T-cellen en macrofagen. Daarmee wordt voorkomen dat de ziekte verergert, maar de patiënt wordt niet beter aangezien de myeline-laag en zenuwcellen onherstelbaar beschadigd zijn. De huidige therapieën werken maar in een deel van de patiënten met RR-MS [7] en ze hebben nauwelijks effect in de progressieve fase van MS. Tevens kunnen er ernstige bijwerkingen ontstaan, zoals reactivatie van virussen en autoimmun-reacties gericht tegen bijvoorbeeld de schildklier. Daarom zullen ook de komende jaren nog veel nieuwe therapieën tegen MS ontwikkeld en getest moeten worden. Voor de progressieve vormen van MS (SP-MS en PP-MS) is er pas één medicijn beschikbaar [8]. Dit komt doordat de pathogene mechanismes tijdens progressieve MS alsmede het precieze verschil met RR-MS nog onbekend zijn. Tevens is er nog geen goed diermodel voor progressieve MS bekend. Het marmoset EAE model heeft wel een aantal eigenschappen waardoor het lijkt op progressieve MS, namelijk het chronische ziekteverloop en laesies in de grijze stof. Echter dit model kan in de toekomst verder geoptimaliseerd worden zodat het beter op progressieve MS gaat lijken.

Waarom de niet-humane primate?:

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

Het EAE model: Een van de best gekarakteriseerde diermodellen voor MS is experimentele autoimmuun encefalomyelitis (EAE); het model is ontwikkeld in ratten, muizen en niet-humane primaten (NHP) [9, 10]. Het muizen EAE model wordt veel gebruikt voor basaal onderzoek alsmede het testen van nieuwe kandidaat-geneesmiddelen. Het muizen EAE model heeft in belangrijke mate bijgedragen aan de huidige inzichten in de ziekte mechanismes van MS. In het muizen EAE model zijn diverse therapieën ontwikkeld die gebruikt worden voor de behandeling van RR-MS. Een voorbeeld daarvan is het monoclonale antilichaam natalizumab, dat de entree van immuuncellen in het CNS blokkeert. Er is echter een lange lijst van aanvankelijk veelbelovende kandidaat geneesmiddelen die de vertaling van diermodel naar MS patiënt niet hebben overleefd vanwege onverwachte toxiciteit of afwezigheid van werkzaamheid. Het wordt in toenemende mate duidelijk dat het muizen EAE model zeer bruikbaar is voor fundamenteel onderzoek aan bepaalde facetten van MS, met name de rol van ontstekingscellen, maar dat het door de afwezigheid van immunologische mechanismes die werkzaam zijn in de chronische fase van MS niet goed bruikbaar is voor geneesmiddelenontwikkeling. In bepaalde opzichten lijkt het muizen-model niet goed op MS. In het muizen EAE model zitten de laesies alleen in het ruggenmerg, terwijl in MS vooral ook de hersenen zijn aangetast. Tevens lijken deze laesies qua complexiteit niet goed op de laesies in MS patiënten [11]. Ook is er een verschil wat betreft het immuun mechanisme dat tijdens de ziekte een rol speelt: in het muizen EAE model spelen voornamelijk de CD4+ T-helper cellen een rol, terwijl in MS CD8+ killer T cellen het belangrijkste lijken te zijn.

De common marmoset (*Callithrix jacchus*), ook wel het penseelaapje genoemd, is een belangrijk diermodel voor humane ziektes [12, 13], waaronder MS. Het EAE model in de huidige sterk verwijnde vorm is het resultaat van een stapsgewijs reductionistisch proces en heeft zich de afgelopen twee decennia ontwikkeld tot een goed gevalideerd preklinisch model voor MS [14-16]. Het EAE model in de marmoset is zeer uitgebreid beschreven in vergunning AVD 10.2.02017881.

Er zijn situaties waarin een nieuwe therapie getest moet worden in een niet-humane primate, maar waarvoor de marmoset niet geschikt is. Dit kan bijvoorbeeld het geval zijn als het medicijn niet kruisreageert met de target in marmosets of als er technische beperkingen zijn in het marmoset model, bijvoorbeeld als grote bloed of cerebrospinale vloeistof volumes nodig zijn. Ook kan het zijn dat een kortdurend model gewenst is, omdat bijvoorbeeld de tijd dat een medicijn zijn werk kan doen, beperkt is (door vorming van neutraliserende antilichamen). Voor deze situaties is er nog een tweede model in niet-humane primaten ontwikkeld: EAE in de resus makaak (*Macaca mulatta*).

EAE in de resus makaak heeft deels dezelfde voordelen als EAE in marmosets, namelijk de pathologie vindt plaats in de hersenen en is in bepaalde aspecten gelijkend aan MS. Tevens zijn de resus makaken ook outbred en blootgesteld aan virussen zoals bij de marmoset het geval is en kunnen ze gebruikt worden voor multi-compartmentale immuunprofieling. Het EAE model in de resus makaak wordt geïnduceerd met compleet Freund's adjuvant (CFA). Er is keuze uit twee antigenen, recombinant humaan myeline oligodendrocyte glycoproteïne (rhMOG), of een peptide daarvan, MOG34-56 [17] [18]. In tegenstelling tot de marmoset, kan in resus apen CFA niet vervangen worden door incompleet Freund's adjuvant (IFA). Immuniseren met rhMOG in IFA leidde tot EAE in twee van de vijf resus makaken [19]. Dit is een te lage incidentie om bijvoorbeeld de effectiviteit van een nieuw medicijn te testen en daarom

is het gebruik van CFA nodig tot er een beter adjuvant beschikbaar is. Immuniseren met MOG34-56 in IFA heeft in geen van de 5 dieren tot EAE geleid (niet gepubliceerd).

In resus makaken is het ziekteverloop van EAE acuter met ernstigere pathologie in de hersenen dan in de marmoset. Dit model lijkt meer op een monofasische variant van MS in kinderen, oftewel acute gedissemineerde encefalomyelitis (ADEM) [17] [20]. Kenmerkend voor deze ziekte is het acuut ontstaan van neurologische uitvalsverschijnselen veroorzaakt door ontstekingen op meerdere plaatsen in de hersenen. Deze ontstekingen ontstaan door een reactie van het afweersysteem tegen lichaamseigen antigenen. ADEM is dan ook geassocieerd met anti-MOG antilichamen [21]. De precieze oorzaak van ADEM is onbekend, maar de ziekte ontstaat vaak na een infectie en heel soms na een vaccinatie. De belangrijkste kenmerken die ADEM van MS onderscheiden en die ook in het resus EAE model voorkomen zijn encefalopathie, in de resus aap herkenbaar als lethargie, en witte bloedcellen in het hersenvocht.

Het EAE model in de resus aap is gevalideerd met natalizumab, een medicijn goedgekeurd voor RR-MS [22] en wordt ook gebruikt voor het testen van nieuwe therapieën voor MS [23]. Deze laatste twee studies tonen tevens aan dat co-stimulatie van T-cellen via het CD28 molecuul en de infiltratie van lymfocyten naar de hersenen van cruciaal belang zijn voor de ziekte.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

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

Het eerste doel van dit project is om de effectiviteit van kandidaat-geneesmiddelen tegen MS te bepalen in het diermodel voor MS, namelijk EAE in de resus makaak. Het tweede doel van dit project is het bestuderen van de ziektemechanismes betrokken bij EAE en het optimaliseren van de bestaande EAE modellen ten behoeve van therapie-studies.

Het instituut waar dit onderzoek zal worden uitgevoerd heeft in de afgelopen 20 jaar grote expertise opgebouwd op het gebied van het uitvoeren van vergelijkbare studies in het EAE model. Het marmoset EAE model is gebruikt voor het testen van IFN-gamma [24] en antilichamen tegen IL-12p40 [25, 26], CD40 [27, 28], IL-17A [29], CD20 [30-32], IL-7 receptor (CD127) [33] en antilichamen tegen de B-cel groeifactoren BlyS en April [34]. Tevens is onderzocht of tolerantie geïnduceerd kan worden met een fusie eiwit dat gebruik maakt van het cholera toxine subunit en een Ig bindende regio van staphylococcus aureus protein [35]. Tenslotte is het model gebruikt om de haalbaarheid van stamcel therapie te onderzoeken; dit betrof neurale stamcellen [36] en geïnduceerde pluripotente stamcellen (iPS) [37]. Het resus makaak EAE model is gevalideerd met een goedgekeurd medicijn voor MS, namelijk natalizumab [22]. Tevens is een antilichaam tegen het co-stimulatie molecuul CD28 getest en effectief gebleken [23].

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

Referenties bij 3.1 en 3.2

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

opportunities for immunotherapy. *Clin Transl Immunology* 3 (10), e27.

6. Vanheusden, M. et al. (2015) Cytomegalovirus: a culprit or protector in multiple sclerosis? *Trends Mol Med* 21 (1), 16-23.

7. Bertolotto, A. and Gilli, F. (2008) Interferon-beta responders and non-responders. A biological approach. *Neurol Sci* 29 Suppl 2, S216-7.

8. Montalban, X. et al. (2017) Ocrelizumab versus placebo in primary progressive multiple sclerosis. *N Engl J Med* 376 (3), 209-220.

9. Gold, R. et al. (2006) Understanding pathogenesis and therapy of multiple sclerosis via animal models: 70 years of merits and culprits in experimental autoimmune encephalomyelitis research. *Brain* 129 (Pt 8), 1953-71.

10. Friese, M.A. et al. (2006) The value of animal models for drug development in multiple sclerosis. *Brain* 129 (Pt 8), 1940-52.

11. Schuh, C. et al. (2014) Oxidative tissue injury in multiple sclerosis is only partly reflected in experimental disease models. *Acta Neuropathol* 128 (2), 247-66.

12. 10.2.e

10.2.e

13. Mansfield, K. (2003) Marmoset models commonly used in biomedical research. *Comp Med* 53 (4), 383-97

14. 10.2.e

10.2.e

15. 10.2.e

10.2.e

10.2.e

17. Kerlero de Rosbo, N. et al. (2000) Rhesus monkeys are highly susceptible to experimental autoimmune encephalomyelitis induced by myelin oligodendrocyte glycoprotein: characterisation of immunodominant T- and B-cell epitopes. *J Neuroimmunol* 110 (1-2), 83-96

18. 10.2.e

10.2.e

19. 10.2.e

10.2.e

20. 10.2.e

10.2.e

21. 10.2.e

10.2.e

22. 10.2.e

10.2.e

23. 10.2.e

10.2.e

24. 10.2.e

10.2.e

25. 10.2.e

10.2.e

26. 10.2.e

10.2.e

27. Laman, J.D. et al. (2002) Protection of marmoset monkeys against EAE by treatment with a murine antibody blocking CD40 (mu5D12). *Eur J Immunol* 32 (8), 2218-28.

28. 10.2.e

10.2.e

29. 10.2.e

10.2.e

30. 10.2.e

10.2.e

31. 10.2.e

10.2.e

32. 10.2.e

10.2.e

33. 10.2.e

10.2.e

34. 10.2.e

10.2.e

35. 10.2.e

10.2.e

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

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

3.3 Belang

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

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

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

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

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Het project zal bestaan uit meerdere EAE studies, waarin per studie één groep makaken dient als controle en één of meerdere groepen makaken worden behandeld met de te testen therapie, of met bijvoorbeeld een nieuwe inductie-methode, of waarin een werkingsmechanisme wordt onderzocht.

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

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

Farmacokinetiek/farmacodynamiek in de resus makaak:

Voor dit experiment zal één of meerdere concentraties van de therapie eenmalig of herhaaldelijk worden ingespoten in de resus makaak. Herhaaldelijke bloedafnames zullen informatie geven over de te gebruiken dosis en/of toedieningsschema tijdens de evaluatie van de therapie in het makaak EAE model. Het uitvoeren van een farmacokinetiek en/of farmacodynamiek studie wordt niet standaard voorgegaan aan een EAE studie. Deze experimenten zijn alleen nodig wanneer de optimale concentratie van de teststof niet bekend is en niet op een andere manier verkregen kan worden.

Therapie evaluatie in het resus makaak EAE model:

De apen worden geïmmuniseerd met rhMOG/CFA of MOG34-56/CFA. In het MOG35-56/CFA model kan de immunisatie gevolgd worden door booster immunisaties met rhMOG of MOG34-56 in IFA, elke 28 dagen tot er neurologische symptomen optreden, EAE score 2. Deze inductie methode kan mogelijk wijzigen als uit onderzoek blijkt dat bijvoorbeeld een ander antigeen of adjuvant een beter model voor MS oplevert of het ongerief reduceert. De dieren zullen dagelijks worden geobserveerd op klinische symptomen behorend tot EAE. Tijdens de dierproef zal er regelmatig bloed worden afgenomen. Aan het eind van de studie of wanneer het humane eindpunt is bereikt, worden de dieren geëuthanaseerd waarna het centrale zenuwstelsel wordt onderzocht op de pathologie behorende bij EAE. In de lymfoïde organen wordt het immuunrespons onderzocht en wanneer mogelijk wordt ook gekeken naar de werking van de therapie.

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

1. Het kandidaat medicijn mag niet toxisch zijn in die zin dat het fatale gevolgen kan hebben. Vóórdat het in het aapmodel worden gebruikt moet het eerst uitgebreid in vitro (celkweek) of in kleine proefdieren getest zijn op de afwezigheid van toxiciteit.
2. De therapie is in de regel ontwikkeld voor een humaan doel/target, maar zal ook kruisreactief moeten zijn met het doel in de aap.
3. De therapie moet specifiek zijn voor primaten en daardoor niet in een lagere diersoort getest kunnen worden of de therapie kan niet afdoende worden getest in een ander diersoort vanwege het niet-representatief zijn van deze diermodellen voor de specifieke therapie.
4. De eerste keus ligt bij de marmoset, maar in enkele gevallen is de resus makaak nodig. Dit kan het geval zijn als het medicijn niet kruisreageert met de target in marmosets, als er technische beperkingen (denk aan grote bloedafnames, afname cerebrospinale vloeistof) zijn in het marmoset model, of als een kortdurend model gewenst is, omdat bijvoorbeeld de tijd dat een medicijn zijn werk kan doen, beperkt is (door vorming van neutraliserende antilichamen).

Onderzoek naar werkingsmechanismes en optimalisatie van het EAE model

De EAE modellen in de marmoset en de resus makaak lijken al zeer goed op MS in mensen. Echter er zijn ook nog studies nodig om de modellen verder te optimaliseren en te karakteriseren. Zo hebben we bijvoorbeeld gevonden dat het marmoset EAE model gevoelig is voor veranderingen in het dieet. Deze veranderingen in het dieet veroorzaken veranderingen in de darmflora en in de gen expressie in de hersenen. Verder onderzoek zal veel informatie kunnen opleveren voor MS. Tevens lijkt er een verschil te zijn tussen immunisatie met rhMOG en MOG34-56 in IFA. Om dit soort vraagstukken verder te onderzoeken, zullen er EAE studies gedaan moeten worden. Een ander voorbeeld van optimalisatie is het veranderen van adjuvant in resus makaak EAE model. Het gebruik van CFA in de makaak modellen

induceert granuloma's op de immunisatie-plekken en het veranderen van het adjuvant zou mogelijk ongerief kunnen besparen.

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

Een therapie kan meteen in het makiak EAE model getest worden als er uit eerdere *in vitro* of *in vivo* studies een indicatie is voor een te testen concentratie en toedieningsschema. Indien dit niet het geval is kan er voorafgaand aan een therapie evaluatie eerst een farmacokinetiek en/of farmacodynamiek experiment nodig zijn om de dosis en/of toedieningsschema te bepalen. Door meer te weten te komen over het werkingsmechanisme kunnen nieuwe therapieën worden ontwikkeld en kan het model geoptimaliseerd en verfijnd worden. Deze verbeterde modellen kunnen weer gebruikt worden voor het testen van nieuwe therapieën.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in de resus makiak.
2	Therapie evaluatie in het resus makiak EAE model.
3	Bestudering van de ziektemechanismen en optimalisatie en karakterisatie van het EAE model in resus makaken
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Bijlage Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.

10.2.g

Volgnummer	Type dierproef
1	Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in de resus makaak.

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Dit voorstel omvat het gebruik van de resus makaak (*Macaca mulatta*). Voordat een therapie in het EAE-model in de resus makaak getest kan worden, is het soms nodig om de effectieve dosis en/of het toedieningsschema te bepalen in dieren zonder EAE. Tijdens een experiment zal worden gekeken naar de farmacokinetiek en/of farmacodynamiek van nieuwe geneesmiddelen. In het geval van farmacokinetiek worden de circulerende levels van een therapie bepaald in bloed dat zeer regelmatig zal worden afgenomen. In het geval van farmacodynamiek kan er o.a. worden gekeken naar hematologie en bloedchemie, celtypes in bloed en lymfoïde organen en cytokine productie.

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

- Voor bloedafname of toediening van teststof of controle preparaat en gelijktijdige lichaamsgewicht meting worden de dieren gesedeerd. Indien de toediening van de teststof intramusculair is en er geen andere handelingen nodig zijn, kan de injectie in de kooi zonder sedatie worden gegeven.
- De toedieningsroute van een teststof of controle preparaat wordt per studie bepaald en is afhankelijk van de aard van de teststof. Tijdens een experiment zal er 1 toedieningsroute worden gebruikt. Afhankelijk van de toedieningsroute zal de teststof of controle preparaat eenmalig of herhaaldelijk worden gegeven. Mogelijke toedieningsroutes zijn intraveneus (i.v.), subcutaan (s.c), intramusculair (i.m), intranasaal (i.n.), oraal, intracisternaal of intracraniaal.
- Na de toedieningen zal zeer regelmatig bloed worden afgenomen. In het geval van farmacokinetiek kunnen dit meerdere kleine bloedafnames zijn in een bepaalde tijdspanne. In het geval van farmacodynamiek, waarbij het effect van het kandidaat geneesmiddel op biologische/immunologische processen wordt bepaald, zullen er grotere bloedafnames plaatsvinden met meer tijd ertussen. Cerebrospinale vloeistof (CSF) kan worden afgenomen via de cisterna magna of via een lumbaal punctie.

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

Een PK/PD studie is soms nodig om een eerste indruk te krijgen van een nieuwe therapie. Om de farmacodynamiek van een therapie te bepalen kan het dier zijn eigen controle zijn (pre- en post-injectie resultaten in bloed worden vergeleken) of zijn er controle dieren nodig (bijvoorbeeld wanneer de lymfoïde organen worden onderzocht). Een testgroep zal in de regel bestaan uit een gelimiteerd aantal dieren (n=2-4 per groep). Farmacokinetiek profielen zijn zeer consistent tussen dieren en een groeps grootte van twee of drie dieren is uit eerdere studies voldoende informatief gebleken. Het effect van een therapie op biologische processen (farmacodynamiek) omvat meerdere variabelen tussen dieren en vereist daarom groeps grootte van 3 of 4 dieren, afhankelijk van de therapie en de uitkomstparameters.

B. De dieren

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

Resus makaak (*Macaca mulatta*), volwassen, M/V, uit de eigen fokkolonie, n=36

Diersoort: Het EAE model in niet-menselijke primaten (marmosets en makaken) heeft een unieke positie in het translationeel MS onderzoek van ziektemechanismes en behandeling. Vanwege de grote immunologische, klinische en pathologische overeenkomsten met MS is het model een essentiële overbrugging van de brede kloof tussen de knaagdier EAE modellen en de patiënt. Voordat een EAE studie wordt gedaan, is het soms nodig om een PK/PD studie te doen, bijvoorbeeld wanneer de optimale concentratie van de teststof niet bekend is en niet op een andere manier verkregen kan worden. Een PK/PD studie wordt gedaan in dezelfde aapsoort als waarin de EAE studie wordt gedaan, omdat de affiniteit van de teststof voor het antigeen kan verschillen tussen de aapsoorten en dit kan dan leiden tot andere resultaten.

Herkomst: De dieren zullen afkomstig zijn van de eigen fok binnen het instituut waar het experiment wordt uitgevoerd of in uitzonderingsgevallen van een erkende importeur, waarbij de richtlijnen van de EU zullen worden gevolgd.

Levensstadia: De dieren moeten volwassen zijn, zodat ze een goed ontwikkeld immuunsysteem en centraal zenuwstelsel hebben.

Aantal: Geschatte aantal studies in 5 jaar (2018-2022) is 3. Iedere studie zal worden uitgevoerd met een geschat aantal van 3 groepen en 4 makaken per groep. Het geschatte aantal dieren is 36 resus makaken.

Geslacht: Er is aangetoond dat er geen verschil is tussen de sexen in het EAE model. Afhankelijk van de teststof, de vraagstelling en de beschikbaarheid zal er worden gekozen voor een of beide geslachten en hetzelfde geslacht zal worden gekozen voor een EAE en PK en/of PD studie.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

geacht.

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

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

Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

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

Wanneer mogelijk zal er gebruik worden gemaakt van 'physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modellering'. Echter voor hoogmoleculaire biologische geneesmiddelen (biologicals), zoals monoclonale antistoffen, cytokines e.d. is deze techniek nog niet ontwikkeld. Voor laag moleculaire chemische drugs is de techniek wel ontwikkeld, maar dit type geneesmiddel wordt slechts zeer zelden getest in onze primaten modellen.

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

Verfijning: De dieren worden voor aanvang van de studie getraind om zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken waardoor het ongerief kan worden beperkt. Tevens worden voor de bloedafnames voor de resus makaak de vastgestelde fysiologische grenzen gerespecteerd, namelijk maximaal 1% van het lichaamsgewicht per 4 weken.

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

Training: Resus makaken worden getraind om zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken aan invasieve biotechnische handelingen zoals het geven van een verdoving.

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

Medicatie: Pijn, lijden en angst kunnen worden waargenomen. In een dergelijk geval zal in overleg met de dierenartsen worden besloten of er adequate pijnbestrijding kan en moet worden voorgeschreven. De medicatie die kan worden toegediend is afhankelijk van het experiment. In het geval het te testen geneesmiddel aangrijpt op het immuunsysteem, mag de pijnmedicatie geen anti-ontstekingsmiddelen bevatten.

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

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

waarom duplicatie noodzakelijk is.

Niet van toepassing

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

De toediening van een teststof kan in principe, en afhankelijk van de toedieningsroute, lokale irritatie en eventuele pijn veroorzaken. Bij lokale adversiteit zal het ongerief naar verwachting licht zijn, maar waar nodig zal de veterinaire staf in overleg een passende medicatie toepassen.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. ongerief door toediening teststof
2. ongerief door sedatie en ontwaken uit sedatie
3. ongerief door frequent vasten

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. De toediening van een teststof kan, afhankelijk van de toedieningsroute, lokale pijn en irritatie veroorzaken.
2. Voor sedatie moet het dier nuchter blijven. Net als bij mensen kunnen we verwachten dat voor makaken het bijkomen uit een sedatie soms een gevoel van desoriëntatie en/of misselijkheid met zich meebrengt. Indien meerdere bloedafnames achter elkaar op één dag plaatsvinden, moet een dier langdurig gesedeerd

worden en dan kan de lichaamstemperatuur dalen.

3. Voor een farmacokinetische reeks kan dagelijkse bloedsampling onder sedatie noodzakelijk maken, zeker in de eerste dagen na toediening van de teststof. Ten behoeve van de sedatie worden de dieren gevast. Door dit frequente vasten in de eerste dagen na toediening van de teststof is mogelijkheid tot voedselopname verminderd

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

1. Alle dieren worden intensief getraind om te wennen aan de experimentele procedures. Ongerief van inspuitingsplaatsen zal naar verwachting licht zijn. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts medicatie worden toegepast.
2. In het geval van meerdere bloedafnames op één dag kunnen dieren op een warmtemat worden gelegd ter voorkoming van temperatuurverlaging. De dieren worden in de gaten gehouden na het ontwaken en wanneer nodig zal de veterinar worden geraadpleegd.
3. Aanvullend voedsaam en calorierijk dieet kan eventueel via een maagsonde worden toegediend gedurende de periode van frequent (dagelijks) vasten.

J. Humane eindpunten

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

Nee > Ga verder met vraag K.

X Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

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

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

Het ligt niet in de lijn der verwachting dat dieren in farmacokinetiek/farmadynamiek studies humane eindpunten bereiken, maar het is ook niet helemaal uit te sluiten. De verwachting is dat dit percentage tussen de 0 en 5% ligt.

K. Classificatie van ongerief

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

Het cumulatieve ongerief wordt geclassificeerd als matig. Het ongerief wordt vooral bepaald door herhaalde bloedafnames. Indien het aantal verdovingen beperkt is, kan in voorkomende gevallen het ongerief worden ingeschat als licht. Dit zal gebeuren in overleg met de IVD.

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee

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

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

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

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.

1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.

10.2.g

Volgnummer	Type dierproef
2	Therapie evaluatie in het resus makaak EAE model.

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Dit voorstel omvat het gebruik van een gevalideerd diermodel voor de neurologische ziekte multiple sclerose (MS), namelijk experimenteel geïnduceerde auto-immuun encefalomyelitis (EAE) in de resus makaak, ten behoeve van translationeel onderzoek voor therapie ontwikkeling.

EAE wordt geïnduceerd met een antigeen en een adjuvant. In het resus makaak EAE model wordt compleet Freund's adjuvant (CFA) gebruikt. Het gebruik van incompleet Freund's adjuvant (IFA) heeft in de resus aap niet geleid tot een bruikbare EAE incidentie, aangezien slechts 2 van de 5 dieren klinische symptomen van EAE ontwikkelden. Er is keuze uit twee antigenen, recombinant humaan myeline oligodendrocyte glycoproteïne (rhMOG), of een peptide daarvan, MOG34-56. Het rhMOG/CFA model in de resus aap is een acute ziekte. De ziekte openbaart zich tussen de 10 en 40 dagen. Als de dieren eenmaal EAE hebben, is de progressie zo snel, dat ze meestal binnen 24 tot 48 uur het humane eindpunt bereiken en daarom ge-euthanaseerd worden. Het MOG34-56/CFA model in de resus aap kent een meer variabel begin van de ziekte. Boosts met MOG34-56/IFA kunnen nodig zijn. Ook het ziekteverloop is variabel. Bij sommige dieren verloopt het ziekteproces net zo snel als in het rhMOG/CFA model, bij anderen is het ziekte verloop geleidelijker, vergelijkbaar met marmoset EAE. Om het model verder te verfijnen en te optimaliseren zullen er in de toekomst andere antigenen en adjuvantia worden getest (zie bijlage 3). Deze vernieuwde modellen kunnen dan ook worden gebruikt voor het testen van nieuwe therapieën en zullen dan ook onder deze bijlage vallen.

De primaire uitkomstparameter is de tijd tot het humane eindpunt (EAE score tabel 1 in paragraaf J). Hiermee kan het doel 'het bepalen van de effectiviteit van een nieuw medicijn' worden behaald.

Verder wordt post mortem gekeken naar de ernst van de pathologie in de hersenen en het ruggenmerg. Deze kan worden bepaald door post mortem magnetische resonantie imaging (MRI) van het gefixeerde brein. Daarmee kan het totale oppervlak en de ruimtelijke verdeling van de laesies worden bepaald. Vervolgens kan door histologische analyse de mate en ernst van ontsteking en weefselschade vastgesteld.

Andere parameters kunnen zijn:

1. Lichaamsgewicht
2. hematologie en bloedchemie
3. Reactie van immuuncellen in bloed en lymfoïde organen op stimulatie met ziekte-relevante antigenen
4. Celtypes in cerebrospinale vloeistof, bloed en lymfoïde organen
5. Cytokines in cerebrospinale vloeistof, bloed en lymfoïde organen
6. Antistoffen in cerebrospinale vloeistof en bloed
7. Elektro-encefalogram (EEG)

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

- Voor immunisatie zal er bloed worden afgenomen voor de bepaling van individuele nulwaarden van relevante parameters en soms voor het maken van getransformeerde B-cellen. Na immunisatie zal regelmatig bloed worden afgenomen voor het bepalen van relevante immuunparameters.
- De dieren worden geïmmuniseerd door intracutane injecties op de rug met een emulsie, bevattende recombinant humaan myeline oligodendrocyte glycoproteïne (MOG) met compleet Freund's adjuvant (rhMOG/CFA) of een MOG peptide (34-56) in CFA. In het geval van MOG34-56/CFA wordt deze handeling elke 28 dagen herhaald met MOG34-56/IFA totdat een dier EAE score 2 heeft ontwikkeld, met een maximum van 3 boosts met MOG34-56/IFA per dier. Dit gebeurt onder sedatie. Indien de modellen verder verfijnd worden, kunnen ook andere antigenen en/of adjuvantia gebruikt worden om een therapie te testen in de makaak.
- Voor bloedafname of toediening van de teststof of het controle preparaat en gelijktijdige lichaamsgewicht meting worden de dieren gesedeerd.
- De klinische score behorend bij EAE wordt dagelijks gemonitord. Daarbij wordt een standaard score systeem gehanteerd waarmee de gradatie van neurologische defecten wordt vastgelegd.
- De toedieningsroute van teststof of controle preparaat wordt voor iedere studie bepaald en is afhankelijk van de aard van de teststof. Afhankelijk van de toedieningsroute zal de teststof of controle preparaat eenmalig of herhaaldelijk worden gegeven. De start van de toediening is afhankelijk van de teststof en de vraagstelling, soms is dit bijvoorbeeld 1 dag of 1 week voor de immunisatie, soms is dit na de immunisatie. Mogelijke toedieningsroutes zijn intraveneus (i.v.), subcutaan (s.c), intramusculaire (i.m.), intranasaal (i.n.), oraal, intracisternaal, of intracraniaal.
- EEG metingen: Aangezien bij neurologische aandoeningen de hersenactiviteit kan veranderen, is de hersenactiviteit (gemeten met EEG) een parameter om de ziekte-inductie en/of het effect van de therapie hierop te kunnen meten. Voor het meten van het EEG, wordt voor aanvang van de studie onder algehele anesthesie, door het veterinaire team een transmitter, voor telemetrische data acquisitie, met elektroden onder de huid of in de buikholte gebracht. De EEG-elektroden worden in de schedel geplaatst en de EMG-elektroden (elektro-myogram voor het meten van spierspanning) in spierweefsel van de nek en schouder (t.b.v. het identificeren van de droom(REM)-slaap). Pre- en post-operatief krijgen de dieren adequate pijnstilling om eventuele pijnervaringen als gevolg van de operatie tegen te gaan en antibiotica 1 dag voorafgaand aan de operatie en enkele dagen erna.

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

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

B. De dieren

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

Resus makaak (*Macaca mulatta*), n=54, volwassen, m/v.

Diersoort: Het EAE model in niet-menselijke primaten heeft een unieke positie in het translationeel MS onderzoek van ziektemechanismes en behandeling. Vanwege de grote immunologische, klinische en pathologische overeenkomsten met MS is het model een essentiële overbrugging van de kloof tussen de knaagdier EAE modellen en de patiënt. De eerste keus om therapieën te testen is het marmoset EAE model (vergunning AVD 10.2.92017881). Dit model lijkt meer op volwassene MS dan EAE in makaken. Echter, in bepaalde gevallen is het EAE model in resus apen nodig. Dit kan het geval zijn als het medicijn niet kruisreageert met de target in marmosets, als er technische beperkingen (grote bloedafnames, afname cerebrospinale vloeistof) zijn in het marmoset model, of als een kortdurend model gewenst is, omdat bijvoorbeeld de tijd dat een medicijn zijn werk kan doen, beperkt is (door vorming van neutraliserende antilichamen).

Herkomst: De dieren zullen afkomstig zijn van de eigen fok binnen het instituut waar het experiment wordt uitgevoerd of in uitzonderingsgevallen van een erkende importeur, waarbij de richtlijnen van de EU zullen worden gevolgd.

Levensstadia: De dieren moeten volwassen zijn, zodat ze een goed ontwikkeld immuunsysteem en centraal zenuwstelsel hebben.

Aantal: Iedere studie zal worden uitgevoerd met ongeveer 6 resus makaken per groep, afhankelijk van de te gebruiken immunisatie-methode, vraagstelling en statistische power-analyse. Een experiment bestaat uit 1 controle groep en 1 of 2 groepen die de nieuwe therapie krijgen, dus een experiment zal gemiddeld bestaan uit 12 of 18 dieren. Het geschatte aantal resus makaak studies onder deze bijlage tot de einddatum van deze CCD is 3, met een geschat aantal van maximaal 54 makaken

Geslacht: Er is aangetoond dat er geen verschil is tussen de sexen in het EAE model. Afhankelijk van de teststof, de vraagstelling en de beschikbaarheid zal er worden gekozen voor een of beide geslachten.

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.

Gezien de lange levensduur van deze species is het mogelijk dat dieren die zullen worden gebruikt in de dierproeven, gebruikt zijn in eerdere dierproeven. Indien sprake is van hergebruik, zal deze plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1^e van de Wet op de Dierproeven en zoals beschreven in de Toelichting. Geselecteerde dieren mogen niet behandeld zijn met een product dat kan interfereren met het EAE model of het kandidaat-geneesmiddel dat zal worden getest.

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

Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

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

Vervanging door EAE modellen in lagere species. Voor het gebruik van de resus makaken wordt eerst

nagegaan of de marmoset kan worden gebruikt. Indien een therapie getest moet worden in een niet-menselijke primate, zal de eerste keus vallen op het marmoset EAE model (vergunning AVD 102 2017881). Dit model lijkt meer op volwassene MS dan EAE in resus makaken. Echter, in bepaalde gevallen is het EAE model in resus apen nodig. Dit kan het geval zijn als het medicijn niet kruisreageert met de target in marmosets, als er technische beperkingen zijn in het marmoset model, bijvoorbeeld als grote bloed of cerebrospinale vloeistof volumes nodig zijn, of als een kortdurend model gewenst is, omdat bijvoorbeeld de tijd dat een medicijn zijn werk kan doen, beperkt is (door o.a. vorming van neutraliserende antilichamen). Afhankelijk van de target van de therapie kan het resusaap EAE dan een goed alternatief zijn voor het marmoset EAE model.

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

Verfijning: Het gebruik van CFA kan granuloma's veroorzaken op de immunisatieplekken. Een van de doelen in bijlage 3, is het model in resus makaken verder verfijnen door het gebruik van een ander adjuvant.

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

Training: De dieren worden voor aanvang van de studie getraind om zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken, waardoor de stress kan worden verminderd.

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

Medicatie: Pijn, lijden en angst kunnen worden waargenomen. In een dergelijk geval zal in overleg met de dierenartsen worden besloten of er adequate pijnbestrijding kan en moet worden voorgeschreven. De medicatie die kan worden toegediend is afhankelijk van het experiment. In het geval het te testen geneesmiddel aangrijpt op het immuunsysteem, mag de pijnmedicatie geen anti-ontstekingsmiddelen bevatten.

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

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

Niet van toepassing.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

In de MS patiënt wordt soms pijnlijke spasticiteit waargenomen. Dit is tot nu toe niet gezien in EAE studies, maar kan niet voor de volle 100% worden uitgesloten. Wanneer symptomen van pijn worden geobserveerd zal orale of parenterale pijnstilling worden toegediend na overleg met de veterinaire. De medicatie die kan worden toegediend is afhankelijk van het experiment. In het geval het te testen geneesmiddel aangrijpt op het immuunsysteem, mag de pijnmedicatie geen anti-ontstekingsmiddelen bevatten. Het aanbrengen van de elektroden voor het meten van het EEG vindt plaats onder algehele anesthesie met peri-operationele pijnstilling om eventuele pijnervaringen tegen te gaan.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

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

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. De insputing van een kleine hoeveelheid inoculum voor immunisatie kan ontsteking en irritatie geven. De insputing van teststof kan, afhankelijk van de plaats van de injectie, lokale pijn en irritatie veroorzaken
2. Voor sedatie moet het dier nuchter blijven. Net als bij mensen kunnen we verwachten dat voor makaken het bijkomen uit een sedatie soms een gevoel van desoriëntatie en/of misselijkheid met zich meebrengt.
3. EAE leidt tot symptomen als ataxie, blindheid, paresis en paralyse. Het verlies van neurologische functies kan als stressvol worden ervaren.
4. Makaken worden normaliter in duo's gehuisvest, omdat het sociale dieren zijn en alleen gehuisvest zitten kan stress geven. Echter, wanneer een kooimaatje vanwege de ernst van de EAE uit de studie dient te worden genomen, is single huisvesting onontkoombaar.

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

1. Alle dieren worden intensief getraind om te wennen aan de experimentele procedures. Ongerief van inspuitingsplaatsen zal naar verwachting licht zijn. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts medicatie worden toegepast.
2. De dieren worden in de gaten gehouden na het ontwaken en wanneer nodig zal de veterinar worden geraadpleegd.
3. We werken met een cumulatieve discomfort schaal (zie ook J). Dieren worden geëuthanaseerd wanneer het humane eindpunt is bereikt.
4. Als een dier door omstandigheden (zoals het bereiken van humaan eindpunt van een kooigenoot) gedurende de studie individueel komt te zitten, wordt er geen nieuwe partner geïntroduceerd omdat dit meer stress oplevert dan individuele huisvesting voor de resterende tijd van een studie.

J. Humane eindpunten

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

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Dieren worden geëuthanaseerd, gevolgd door uitgebreide sectie, wanneer het eindpunt volgens tabel 1 is bereikt, of als het maximaal aantal vooraf geplande dagen is bereikt, of wanneer het algemeen welzijn door andere omstandigheden ernstig wordt aangetast. Een gemiddelde studie in resus makaken waarbij geïmmuniseerd wordt met rhMOG/CFA is 7 weken en met MOG34-56/CFA 17 weken. De maximale duratie in tabel 1 is cumulatief. De humane eindpunten voorkomen dat matig ongerief ernstig wordt en daarom is er geen ernstig ongerief in deze dierproef. Door hanteren van deze eindpunten worden de dieren uit studie genomen in een fase waarin de dieren nog steeds zelfredzaam zijn en waarin zelfstandig eten en drinken en het aangaan van sociale interacties in voldoende mate mogelijk blijven.

Tabel 1: Cumulatieve EAE scoringstabel voor makaken

EAE score	Klinische symptomen	Maximale cumulatieve tijdsduur
0	Asymptomatisch	Einde experiment
0.5	Verminderd alert, veranderd loopgedrag zonder ataxie, Verminderde eetlust, braken	Einde experiment
1	Apathisch (verminderde reactie op externe prikkel)	Einde experiment
2	Ataxie (= evenwichtsstoornis), blind <2 dagen	4 weken
2.5	Parese (incomplete verlamming) van 1 of meer ledematen	3 dagen
3.0	Paralyse (complete verlamming) van 1 (hemiplegie) of meerdere ledematen (paraplegie)	24 uur
4.0	Complete verlamming van 4 ledematen (quadriplegie)	<12 uur
5.0	Lethargie (geen reactie op externe prikkel) Niet zelfstandig kunnen eten en drinken, Meer dan 2 dagen blind, Onbehandelbare pijn	<2 uur

Dieren worden dagelijks gemonitord voor symptomen. Vanaf score 1 wordt dit meerdere keren per dag gedaan.

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

In de controle groep lopen 100% van de dieren kans deze criteria te halen. De incidentie in de groep die behandeld wordt met de te testen therapie kan lager liggen als gevolg van de behandeling.

K. Classificatie van ongerief

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

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

optreden, bijvoorbeeld als gevolg van een geslaagde behandeling met de teststof, blijft het ongerief matig als gevolg van de herhaalde bloedafnames, het gebruik van CFA, dat tot granulomen leidt, plaatsing EEG electrodes en overige injecties.

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee

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

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

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

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja



Bijlage Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.

10.2.g

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

Volgnummer	Type dierproef
3	Bestudering van de ziektemechanismen en optimalisatie en karakterisatie van het EAE model in resus makaken

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Experimenteel geïnduceerde auto-immuun encefalomyelitis (EAE) in de resus makaak (*Macaca mulatta*) is een gevalideerd model voor translationeel onderzoek naar multipale sclerose (MS). Om de ziekte te induceren wordt gebruikt gemaakt van een antigeen en een adjuvant. Op dit moment is er keuze uit twee antigenen, recombinant humaan myeline oligodendrocyt glycoproteïne (rhMOG), of een peptide daarvan, MOG34-56. Deze antigenen worden in emulsie gebracht met compleet Freund's adjuvant (CFA).

Om nieuwe therapieën te ontwikkelen is het nodig om meer te weten te komen over de ziektemechanismen betrokken bij het ontstaan of de progressie van de ziekte. Om nieuwe therapieën te kunnen testen is het verbeteren en verfijnen van het model zeer belangrijk. Het doel van dit onderzoek bestaat daarom uit het bestuderen van de ziektemechanismen en het optimaliseren van het bestaande EAE model ten behoeve van therapie-studies.

Het EAE model in de resus makaak lijkt qua immunologie en pathologie goed op MS en ADEM in mensen [1, 2]. Het EAE model in de resus makaak is gevalideerd met een medicijn dat gebruikt wordt voor de behandeling van MS en wordt gebruikt om nieuwe mogelijke geneesmiddelen te testen [3, 4].

Echter er zijn nog steeds studies nodig om het werkingsmechanisme te onderzoeken en de modellen verder te optimaliseren en te karakteriseren. Een aantal voorbeelden:

1. Er is een verschil tussen immunisatie met rhMOG en MOG34-56. Immunisatie met rhMOG/CFA leidt tot EAE binnen 10 tot 40 dagen in alle resus makaken [5], terwijl immunisatie met MOG34-56/CFA een heterogener verloop heeft met EAE tussen 3 en 19 weken [6]. Waarom er zo'n verschil is tussen de antigenen is onbekend. Mogelijk komt dit doordat het rhMOG dat gebruikt wordt, Toll-like receptor

(TLR) liganden bevat die het immuunsysteem verder activeert. Om dit soort vraagstukken verder te onderzoeken, zullen er EAE studies gedaan moeten worden waarbij gebruik wordt gemaakt van onder andere opgezuiverd rhMOG (zonder TLR liganden) of waarbij TLR liganden of andere immuunactivators worden toegevoegd aan het antigeen.

2. Het gebruik van CFA induceert granuloma's op de immunisatie-plekken, wat ongerief veroorzaakt. Het veranderen van het adjuvant zou mogelijk het ongerief kunnen verminderen. Onlangs is op het instituut een onderzoek gedaan naar de bijwerkingen van een nieuw ontwikkeld adjuvant met TLR en NOD activiteit. Het is goed mogelijk dat dit adjuvant in resus makaken wel EAE induceert maar zonder granuloma-vorming.

Virussen, zoals Epstein-barr virus, spelen mogelijk een rol in de ontwikkeling van MS. Virussen, zoals het JC-virus, kunnen ook reactief worden nadat een therapie wordt gestopt. Om onderzoek te doen naar virussen zijn dieren nodig die positief zijn voor zulke virussen. We hebben al eerder aangetoond dat het injecteren van EBV-getransformeerde B-cellen in de resus makaak, ontsteking in de hersenvliezen veroorzaakt, maar dit veroorzaakte nog geen klinische symptomen [7]. Mogelijk dat dit in de toekomst verder onderzocht wordt.

De experimentele aanpak zal afhangen van het doel van de proef, maar zal vergelijkbaar zijn met de opzet in de therapie-studies zoals beschreven in bijlage 2, met dien verschil dat er niet een therapie wordt getest, maar bijvoorbeeld een nieuwe inductie-methode, een ander adjuvant of de rol van een virus. Het ongerief zal gelijk zijn aan de therapie-studies beschreven in bijlage 2.

De primaire uitkomstparameter zal in de meeste gevallen zijn de tijd tot het humane eindpunt (EAE score tabel 1 in paragraaf J). Hiermee kan het doel 'het optimaliseren of karakteriseren van het model of onderliggende mechanismes' worden behaald.

Verder wordt post mortem gekeken naar de ernst van de pathologie in de hersenen en het ruggenmerg. Deze kan worden bepaald door post mortem magnetische resonantie imaging (MRI) van het gefixeerde brein. Daarmee kan het totale oppervlak en de ruimtelijke verdeling van de laesies worden bepaald. Vervolgens kan door histologische analyse de mate en ernst van ontsteking en weefselschade worden vastgesteld. In bloed en lymfoïde organen kan de activatie van het immuunsysteem worden onderzocht.

Referenties:

1. 10.2.e

10.2.e

2. 10.2.e

10.2.e

3. 10.2.e

10.2.e

4. 10.2.e

10.2.e

5. Kerlero de Rosbo, N. et al. (2000) Rhesus monkeys are highly susceptible to experimental autoimmune encephalomyelitis induced by myelin oligodendrocyte glycoprotein: characterisation of immunodominant T- and B-cell epitopes. *J Neuroimmunol* 110 (1-2), 83-96.

6. 10.2.e

10.2.e

7. 10.2.e

10.2.e

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

- Voor immunisatie zal er bloed worden afgenomen voor de bepaling van individuele nulwaarden van relevante parameters en indien nodig voor het maken van getransformeerde B-cellen. Na immunisatie zal

regelmatig bloed worden afgenomen voor het bepalen van relevante immuunparameters.

- De originele en huidige methode om EAE te induceren maakt gebruik van intracutane injecties op de rug met een emulsie, bevattende recombinant humaan myeline oligodendrocyte glycoproteïne (MOG) of een MOG peptide (34-56) in CFA. In het laatste geval wordt deze handeling elke 28 dagen herhaald met MOG34-56/IFA totdat een dier EAE score 2 heeft ontwikkeld. Om de modellen te optimaliseren kunnen andere antigenen of adjuvantia worden gebruikt of cellen, zoals virus-getransformeerde B-cellen of cellen afkomstig van stamcellen. Deze zullen in de meeste gevallen ook intracutaan op de rug worden gespoten, maar indien nodig kan het ook intraveneus (i.v.), subcutaan (s.c), intramusculaire (i.m.), intranasaal (i.n.), oraal, intracisternaal, of intracraniaal worden toegediend.
- Voor bloedafname en gelijktijdige lichaamsgewicht meting worden de dieren gesedeerd.
- De klinische score behorend bij EAE wordt dagelijks gemonitord. Daarbij wordt een standaard score systeem gehanteerd waarmee de gradatie van neurologische defecten wordt vastgelegd.

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

Wanneer mogelijk zal het benodigde aantal dieren worden bepaald door middel van power-analyse gebaseerd op de verwachte ziekte-incidentie (op basis van historische gegevens >90%) of de tijd tot het ontwikkelen van klinische symptomen.

In sommige gevallen is een power analyse niet mogelijk, bijvoorbeeld wanneer een ander adjuvant wordt vergeleken met CFA, wil je dat het nieuwe adjuvant een gelijke EAE incidentie geeft, maar dan met minder granuloma vorming op de rug, een vergelijkbare immuun response en pathologie. Dit is een exploratief onderzoek en het aantal dieren wordt dan bepaald op basis van historische studies en met zo min mogelijk dieren waarbij toch de onderzoeksvraag kan worden beantwoord.

B. De dieren

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

Resus makaak (*Macaca mulatta*), n=48 volwassen, M/V.

Diersoort: Resus makaken (*Macaca mulatta*) zijn niet-menselijke primaten die zeer geschikt zijn voor translationeel MS onderzoek; er kunnen nieuwe therapieën in worden getest maar ook bijvoorbeeld worden gebruikt om het ziekteverloop, de pathologie of de rol van virussen te onderzoeken.

Herkomst: De dieren zullen afkomstig zijn van de eigen fok binnen het instituut waar het experiment wordt uitgevoerd of in uitzonderingsgevallen van een erkende importeur, waarbij de richtlijnen van de EU zullen worden gevolgd.

Levensstadia: De dieren moeten volwassen zijn, zodat ze een goed ontwikkeld immuunsysteem en centraal zenuwstelsel hebben.

Aantal: De verwachting is dat er twee studies worden gedaan op deze bijlage. Een experiment zal bestaan uit 2-4 groepen, van gemiddeld 6 dieren per groep. Er zijn dan maximaal 48 resus makaken nodig.

Geslacht: Er is aangetoond dat er geen verschil is tussen de sexen in het EAE model. Afhankelijk van de vraagstelling en beschikbaarheid zal er worden gekozen voor een of beide geslachten.

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.

Gezien de lange levensduur van alle species is het mogelijk dat dieren die zullen worden gebruikt in de dierproeven, gebruikt zijn in eerdere dierproeven. Indien sprake is van hergebruik, zal deze plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1^e van de Wet op de Dierproeven en zoals beschreven in de Toelichting. Geselecteerde dieren mogen niet behandeld zijn met een product dat kan interfereren met het EAE model of het kandidaat-geneesmiddel dat zal worden getest.

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

X Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging:

Een nieuw adjuvant of antigeen kan in sommige gevallen eerst in vitro worden getest op de activatie van immuun cellen. Echter daarna, moet het testen van een nieuw adjuvant of antigeen in de resus makaak getest worden, omdat het immuunsysteem van lagere species anders is en dat geen voorspellende waarde geeft voor effect van het antigeen/adjuvant in resus apen.

Het onderzoek naar bepaalde werkingsmechanismes betrokken bij het ontstaan of de progressie van MS kunnen niet in lagere species worden gedaan, omdat bepaalde aspecten van het primaten immuunsysteem, de complexe anatomie van het brein of virus-infecties nodig zijn.

Vermindering:

Het minimaal benodigd aantal dieren zal worden gebruikt. De studies uitgevoerd onder deze bijlage zullen vermindering van dieren geven in bijlage 2, als de EAE incidentie omhoog gaat en/of het model nog beter reproduceerbaar wordt.

Verfijning: Een van de doelen is verfijning van het EAE model in makaken. Door het veranderen van het EAE inductie-protocol, verwachten we dat de makaken minder granuloma's ontwikkelen op de immunisatie plekken.

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

Training: De dieren worden voor aanvang van de studie getraind om zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken, waardoor de stress kan worden verminderd.

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

Medicatie: Pijn, lijden en angst kunnen worden waargenomen. In een dergelijk geval zal in overleg met de dierenartsen worden besloten of er adequate pijnbestrijding kan en moet worden voorgeschreven. De medicatie die kan worden toegediend is afhankelijk van het experiment. In de meeste gevallen mag de pijnmedicatie geen anti-ontstekingsmiddelen bevatten omdat deze mogelijk interfereren met de vraagstelling.

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

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

Niet van toepassing

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

X Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

X Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

In de MS patiënt wordt soms pijnlijke spasticiteit waargenomen. Dit is tot nu toe niet gezien in EAE studies, maar kan niet voor de volle 100% worden uitgesloten. Wanneer symptomen van pijn worden geobserveerd zal orale of parenterale pijnstilling worden toegediend na overleg met de veterinaire. De medicatie die kan worden toegediend is afhankelijk van het experiment. In de meeste gevallen mag de pijnmedicatie geen anti-ontstekingsmiddelen bevatten

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

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

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. De inspuiting van een kleine hoeveelheid inoculum voor immunisatie kan ontsteking en irritatie geven.
2. Voor sedatie moet het dier nuchter blijven. Net als bij mensen kunnen we verwachten dat voor makaken het bijkomen uit een sedatie soms een gevoel van desoriëntatie en/of misselijkheid met zich meebrengt.
3. EAE leidt tot symptomen als ataxie, blindheid, paresis en paralyse. Het verlies van neurologische functies kan als stressvol worden ervaren.
4. dieren worden normaliter in duo's gehuisvest, omdat het sociale dieren zijn en alleen gehuisvest zitten kan stress geven. Echter, wanneer een kooimaatje vanwege de ernst van de EAE uit de studie dient te worden genomen, is single huisvesting onontkoombaar

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

1. Alle dieren worden intensief getraind om te wennen aan de experimentele procedures. Ongerief van inspuitingsplaatsen zal naar verwachting licht zijn. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts medicatie worden toegepast.
2. Alle dieren worden in de gaten gehouden na het ontwaken en wanneer nodig zal de veterinar worden geraadpleegd.
3. We werken met een cumulatieve discomfort schaal (zie paragraaf J). Dieren worden geëuthanaseerd wanneer het humane eindpunt is bereikt.
4. Als een dier door omstandigheden (zoals het bereiken van humaan eindpunt van een kooigenoot) gedurende de studie individueel komt te zitten, wordt er geen nieuwe partner geïntroduceerd omdat dit meer stress oplevert dan individuele huisvesting voor de resterende tijd van een studie.

J. Humane eindpunten

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

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

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

Tabel 1: Cumulatieve EAE scoringstabel voor resus makaken

EAE score	Klinische symptomen	Maximale cumulatieve tijdsduur
0	Asymptomatisch	Einde experiment
0.5	Verminderd alert, veranderd loopgedrag zonder ataxie, Verminderde eetlust, braken	Einde experiment
1	Apathisch (verminderde reactie op externe prikkel)	Einde experiment
2	Ataxie (= evenwichtsstoornis), blind <2 dagen	4 weken
2.5	Parese (incomplete verlamming) van 1 of meer ledematen	3 dagen
3.0	Paralyse (complete verlamming) van 1 (hemiplegie) of meerdere ledematen (paraplegie)	24 uur
4.0	Complete verlamming van 4 ledematen (quadriplegie)	<12 uur
5.0	Lethargie (geen reactie op externe prikkel) Niet zelfstandig kunnen eten en drinken, Meer dan 2 dagen blind, Onbehandelbare pijn	<2 uur

Dieren worden dagelijks gemonitord voor symptomen. Vanaf score 1 wordt dit meerdere keren per dag gedaan.

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

Tussen de 80 en 100%.

K. Classificatie van ongerief

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

bloedafnames, herhaalde injecties en het ontwikkelen van EAE symptomen. Indien er geen EAE symptomen optreden, bijvoorbeeld omdat de nieuwe inductie-methode niet het gewenste resultaat oplevert, blijft het ongerief matig als gevolg van de herhaalde bloedafnames en injecties.

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee

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

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

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

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja



Format

Niet-technische samenvatting

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

1 Algemene gegevens

- 1.1 Titel van het project Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe kandidaat-geneesmiddelen voor multipele sclerose
- 1.2 Looptijd van het project 5 jaar
- 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) Multipele sclerose, geneesmiddel, therapie, diermodel, hersenen

2 Categorie van het project

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

3 Projectbeschrijving

- 3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)
- Multipele sclerose (MS) is een invaliderende ziekte van het centraal zenuwstelsel (hersenen en ruggenmerg) die de kwaliteit van leven ernstig beïnvloedt. Met een incidentie van 1 op de 1000 jongvolwassenen is MS na trauma de belangrijkste neurologische aandoening in jongvolwassenen. De oorzaak van MS is nog steeds onbekend. Wel is inmiddels duidelijk dat iemands DNA, het afweersysteem, omgevingsinvloeden (zonlicht, virussen) en levensstijl (roken, voedsel) een rol spelen bij de progressie van de ziekte. De huidige medicijnen zijn in beperkte mate effectief of gaan gepaard met ernstige bijwerkingen. Er is nog steeds een grote behoefte aan effectievere en veiligere middelen. In het project onderzoeken we de werking van nieuwe medicijnen en de mechanismes betrokken bij het verloop van de ziekte. MS is een ziekte waarin de twee meest complexe systemen in het menselijk lichaam (het afweersysteem en het centraal zenuwstelsel) betrokken zijn. Deze complexe wisselwerking tussen beide systemen kan met de huidige

stand van de techniek niet zonder gebruik van levende dieren worden gemodelleerd. Voor dit onderzoek gebruiken wij het experimenteel-geïnduceerde auto-immuun encefalomyelitis (EAE) model in apen.

- | | | |
|-----|---|---|
| 3.2 | Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang? | Inzicht in de effectiviteit van geneesmiddelen die worden ontwikkeld voor MS en in werkingsmechanismes betrokken bij de progressie van de ziekte. Daarmee draagt dit project direct bij aan de selectie van veelbelovende medicijnen voor klinische studies in de mens. |
| 3.3 | Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt? | Maximaal 114 resus makaken in de gehele looptijd van het project. |
| 3.4 | Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren? | Sufheid en misselijkheid als gevolg van de narcose. Ziekteverschijnselen behorend bij EAE, bijvoorbeeld het verlies van neurologische functies. |
| 3.5 | Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst? | Het cumulatieve ongerief wordt ingeschat als matig. |
| 3.6 | Wat is de bestemming van de dieren na afloop? | Ruim 90% euthanasie, overige zijn beschikbaar voor hergebruik |

4 Drie V's

- | | | |
|-----|--|--|
| 4.1 | Vervanging
Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden. | Nieuwe therapieën voor MS kunnen niet direct in de mens worden getest, omdat dit te veel risico's met zich mee brengt, zoals het verergeren van de ziekte. Bovendien wordt MS veroorzaakt door complexe interacties tussen het centrale zenuwstelsel en het gehele afweersysteem en zeer waarschijnlijk ook door omgevingsinvloeden en levensstijlen. De proefdiervrije alternatieven kunnen deze interactie nog niet nabootsen. |
| 4.2 | Vermindering
Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt. | Door literatuuronderzoek, internationale samenwerking, preselectie van alleen meest veelbelovende kandidaat-therapieën, berekening van het aantal benodigde dieren per groep op basis van eerdere resultaten uit soortgelijke experimenten, waar mogelijk combinatie van doel-/vraagstellingen met gedeeld gebruik van controle groepen. |

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.

Om medicijnen te testen en het werkingsmechanisme te onderzoeken is het belangrijk dat de dieren zoveel mogelijk op mensen lijken, qua afweersysteem, anatomie van de hersenen en virus-infecties. Tevens zullen we het model blijven verfijnen zodat het ongerief afneemt en de voorspellende waarde toeneemt.

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

Training van dieren en personeel, sedatie en/of narcose, dagelijkse observatie, klinische registratie, euthanasie op basis van humane eindpuntcriteria.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

10.2.g
10.2.e
10.2.g

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

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVC 10.2.g 20186344

Datum

Betreft Vervolg aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e

Op 30 augustus 2018 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe therapieën voor multipale sclerose" met aanvraagnummer AVD 10.2.g 20186344. Uw aanvraag wordt in behandeling genomen. In deze brief leest u wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Wanneer een beslissing

Wij nemen uiterlijk 25 oktober 2018 een beslissing. Als wij nog informatie nodig hebben, kan dit later worden. Voor een complexe aanvraag staat een langere termijn. In beide gevallen ontvangt u daarover bericht. 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. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Van: info@zbo-ccd.nl
Aan: Kasbeheer
Onderwerp: Betaalgegevens AVD 10.2.g 20186344
Datum: vrijdag 31 augustus 2018 11:33:55

Er is een nieuwe aanvraag ontvangen. Hiervoor is een factuur verstuurd. Hieronder de gegevens t.b.v. het opboeken van de factuur.

NAW-gegevens:

10.2.g

Factuurdatum: 31-08-2018
Factuurnummer: 186344
Aanvraagnummer: AVD 10.2.g 20186344
Factuurbedrag: EUR 1.791,00

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven
www.centralecommissiedierproeven.nl

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

T: 0900 2800028
E: info@zbo-ccd.nl

Van: Info-zbo
Aan: 10.2.e en 10.2.g
Cc: 10.2.e en 10.2.g
Onderwerp: OntvangstBevestiging
Datum: vrijdag 31 augustus 2018 11:40:09
Bijlagen: [OntvangstBevestiging.pdf](#)

Geachte 10.2.e

In de bijlage treft u de ontvangstbevestiging van uw aanvraag aan, waarnaar wij gemakshalve naar verwijzen.

Graag maken wij u erop attent dat vergunningen en andere besluiten van de Centrale Commissie Dierproeven met ingang van 1 september 2017 uitsluitend nog per e-mail zullen worden toegezonden.

Met vriendelijke groet,

10.2.e

Namens,

Centrale Commissie Dierproeven www.centralecommissiedierproeven.nl
Nationaal Comité advies dierproevenbeleid www.ncadierproevenbeleid.nl

.....

Postbus 93118
2509 AC Den Haag

T: 0900 280028
E: info@zbo-ccd.nl



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

10.2.g
10.2.e
10.2.g

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

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD 10.2.g 20186344
Bijlagen
2

Datum 31 augustus 2018
Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 30 augustus 2018. Het gaat om uw project "Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe therapieën voor multipale sclerose". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD 10.2.g 20186344. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

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

Factuur

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

Meer informatie

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

Datum:

31 augustus 2018

Aanvraagnummer:

AVD102820186344

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:
31 augustus 2018
Aanvraagnummer:
AVD 10.2.g 20186344

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA:

10.2.g

Naam instelling of organisatie:

Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde:

10.2.e

Straat en huisnummer:

10.2.g

Postbus:

Postcode en plaats:

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam:

10.2.e

Functie:

10.2.e

Afdeling:

Immunobiologie

Telefoonnummer:

10.2.e

E-mailadres:

10.2.e en 10.2.g

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam:

10.2.e

Functie:

Afdeling:

Immunobiologie

Telefoonnummer:

10.2.e

Datum:
31 augustus 2018
Aanvraagnummer:
AVD 10.2.g 20186344

Gegevens verantwoordelijke uitvoering proces

Naam: 10.2.e
Functie:
Afdeling: Animal Science
E-mailadres: 10.2.e en 10.2.g

Over uw aanvraag

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

Over uw project

Geplande startdatum: 1 november 2018
Geplande einddatum: 1 november 2023
Titel project: Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe therapieën voor multipale sclerose
Titel niet-technische samenvatting: Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe kandidaatgeneesmiddelen voor multipale sclerose
Naam DEC: 10.2.g
Postadres DEC:
E-mailadres DEC:

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1.791,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen:
 Projectvoorstel
 Beschrijving Dierproeven
 Niet-technische samenvatting

Ondertekening

Naam: 10.2.e
Functie:
Plaats: 10.2.g
Datum: 30 augustus 2018



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

10.2.g
10.2.e
10.2.g

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

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD 10.2.g 20186344
Bijlagen
2

Datum 31 augustus 2018
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 31 augustus 2018
Vervaldatum: 30 september 2018
Factuurnummer: 186344

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD 10.2.g 20186344	€ 1.791,00

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

10.2.e

Van: Info-zbo
Verzonden: vrijdag 31 augustus 2018 13:54
Aan: 10.2.e
CC: 10.2.e
Onderwerp: Nieuwe aanvraag

11

Hoi,

Betreft: AVD 10.2.g 20186344

Met vriendelijke groet,

10.2.e

Namens,

Centrale Commissie Dierproeven www.centralecommissiedierproeven.nl
Nationaal Comité advies dierproevenbeleid www.ncadierproevenbeleid.nl
.....

Postbus 93118
2509 AC Den Haag

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl

Van: 10.2.e
Aan: info@zbo-ccd.nl
Onderwerp: Bevestiging ontvangst projectvergunningsaanvraag AVD 10.2.g 20186344
Datum: maandag 3 september 2018 09:58:11
Bijlagen: image001.png

Geachte leden van de CCD,

Hierbij bevestig ik de ontvangst van de projectvergunningsaanvraag AVD 10.2.g 20186344. Wij zullen de aanvraag in behandeling nemen en bespreken in de vergadering van 7 september 2018.

Vriendelijke groeten,

10.2.e en 10.2.g

[Redacted]

[Redacted]

10.2.e

10.2.e

10.2.g

10.2.e

10.2.g

Van:

Beantwoorden - Aan:

Datum: vrijdag 31 augustus 2018 om 11:35

Aan: DEC

Onderwerp: Verzoek om advies over projectvergunningsaanvraag AVD 10.2.g 20186344

Geachte leden van 10.2.g

De Centrale Commissie Dierproeven (hierna: CCD) verzoekt u in het kader van vergunningverlening (of wijziging van een vergunning) advies te geven over het project met als titel: "Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe therapieën voor multipale sclerose" en aanvraagnummer: AVD 10.2.g 20186344.

Uw commissie wordt verzocht op grond van artikel 10.a.2 van de Wet op de dierproeven de aanvraag te beoordelen en een ethische toetsing uit te voeren waarbij wordt afgewogen of de doelstelling van het project, de verwachte voordelen voor mens, dier of milieu en de haalbaarheid van de doelstellingen, het gebruik van dieren en de schade die zal worden toegebracht aan de dieren in de vorm van lijden, pijn en angst kan rechtvaardigen.

Graag ontvangen wij van u bericht dat deze e-mail goed is ontvangen en wanneer u dit advies in de vergadering gaat bespreken.

Voor het in te dienen advies dient de DEC gebruik te maken van de meest actuele versie van het op de website van de CCD gepubliceerde Format DEC-advies en de toelichting daarbij. U dient deze aanvraag vertrouwelijk te behandelen. Voor de communicatie met de CCD dient u gebruik te maken van de beveiligde verbinding.

De CCD verzoekt u uiterlijk binnen 20 werkdagen, na 31-08-2018, uw advies bij de CCD in te dienen. Indien de aanvraag door uw commissie niet in behandeling kan worden genomen, dient u dit per ommegaande per e-mail aan de CCD te melden.

Ingeval uw commissie tussentijds aanvullende informatie wil inwinnen bij de aanvrager kan de termijn worden opgeschort. U dient de CCD zo spoedig mogelijk op de hoogte te stellen van deze opschorting. Zodra de opschortende termijn is beeindigd, stelt u de CCD hiervan onverwijld op de hoogte. Opschorting van de adviestermijn vindt niet plaats ingeval u ten behoeve van uw advies een onafhankelijk extern expert raadpleegt.

Met vriendelijke groeten,

CCD

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.

10.2.g

Van: info@zbo-ccd.nl
Verzonden: vrijdag 31 augustus 2018 11:36
Aan: 10.2.e en 10.2.g
CC: 10.2.e en 10.2.g
Onderwerp: Verzoek om advies AVD 10.2.g 20186344 verstuurd aan DEC

Geachte meneer, mevrouw,

Op 30-08-2018 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe therapieën voor multipale sclerose" met aanvraagnummer AVD 10.2.g 20186344.

Uw aanvraag is naar 10.2.g gestuurd. Zij zal hierover advies aan de CCD uitbrengen. Als de DEC vragen heeft, zal zij contact met u opnemen.

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven
www.centralecommissiedierproeven.nl

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

.....
T: 0900 2800028
E: info@zbo-ccd.nl

10.2.e

Van: Info-zbo
Verzonden: maandag 3 september 2018 15:35
Aan: 10.2.e
Onderwerp: RE: Bevestiging ontvangst projectvergunningaanvraag AVD 10.2.g 20186344

15

Beste 10.2.e

Bedankt voor het bericht. Wij hebben dit verwerkt.

Met vriendelijke groet,

10.2.e

Namens

Centrale Commissie Dierproeven
www.centralecommissiedierproeven.nl

.....
Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag
.....

T: 0900-2800028

E: info@zbo-ccd.nl

Van: 10.2.e en 10.2.g
Verzonden: maandag 3 september 2018 9:58
Aan: info@zbo-ccd.nl
Onderwerp: Bevestiging ontvangst projectvergunningaanvraag AVD 10.2.g 20186344

14

Geachte leden van de CCD,

Hierbij bevestig ik de ontvangst van de projectvergunningaanvraag AVD 10.2.g 20186344. Wij zullen de aanvraag in behandeling nemen en bespreken in de vergadering van 7 september 2018.

Vriendelijke groeten,

10.2.e en 10.2.g

10.2.g

10.2.e

10.2.g

10.2.e

10.2.g

Van:

Beantwoorden - Aan:

Datum: vrijdag 31 augustus 2018 om 11:35

Aan: DEC

Onderwerp: Verzoek om advies over projectvergunningaanvraag AVD 10.2.g 20186344

12

Geachte leden van 10.2.g

De Centrale Commissie Dierproeven (hierna: CCD) verzoekt u in het kader van vergunningverlening (of wijziging van een vergunning) advies te geven over het project met als titel: "Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe therapieën voor multipale sclerose" en aanvraagnummer: AVD 10.2.g 20186344.

Uw commissie wordt verzocht op grond van artikel 10.a.2 van de Wet op de dierproeven de aanvraag te beoordelen en een ethische toetsing uit te voeren waarbij wordt afgewogen of de doelstelling van het project, de verwachte voordelen voor mens, dier of milieu en de haalbaarheid van de doelstellingen, het gebruik van dieren en de schade die zal worden toegebracht aan de dieren in de vorm van lijden, pijn en angst kan rechtvaardigen.

Graag ontvangen wij van u bericht dat deze e-mail goed is ontvangen en wanneer u dit advies in de vergadering gaat bespreken.

Voor het in te dienen advies dient de DEC gebruik te maken van de meest actuele versie van het op de website van de CCD gepubliceerde Format DEC-advies en de toelichting daarbij. U dient deze aanvraag vertrouwelijk te behandelen. Voor de communicatie met de CCD dient u gebruik te maken van de beveiligde verbinding.

De CCD verzoekt u uiterlijk binnen 20 werkdagen, na 31-08-2018, uw advies bij de CCD in te dienen. Indien de aanvraag door uw commissie niet in behandeling kan worden genomen, dient u dit per ommekeer per e-mail aan de CCD te melden.

Ingeval uw commissie tussentijds aanvullende informatie wil inwinnen bij de aanvrager kan de termijn worden opgeschort. U dient de CCD zo spoedig mogelijk op de hoogte te stellen van deze opschorting. Zodra de opschortende termijn is beëindigd, stelt u de CCD hiervan onverwijld op de hoogte. Opschorting van de adviestermijn vindt niet plaats ingeval u ten behoeve van uw advies een onafhankelijk extern expert raadpleegt.

Met vriendelijke groeten,

CCD

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.

10.2.g

10.2.e

Van: Info-zbo
Verzonden: vrijdag 23 november 2018 15:44
Aan: 10.2.e
Onderwerp: RE: Status AVD 10.2.g 20186344

18

Beste 10.2.e

Bedankt voor uw reactie. Wij hebben verwerkt.

Met vriendelijke groet,

10.2.e

Namens

Centrale Commissie Dierproeven
www.centralecommissiedierproeven.nl

.....
Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag
.....

T: 0900-2800028
E: info@zbo-ccd.nl

Van: 10.2.e en 10.2.g
Verzonden: vrijdag 23 november 2018 15:35
Aan: Info-zbo; 10.2.g
Onderwerp: Re: Status AVD 10.2.g 20186344

17

Beste mevrouw 10.2.e

De DEC heeft op 13 september 2018 een aantal vragen aan de onderzoeker gesteld. Tot op heden heeft de DEC nog geen antwoord ontvangen.

Vriendelijke groeten,

10.2.e

10.2.g

10.2.e

10.2.g

10.2.e

10.2.g

Van: Info-zbo
Datum: vrijdag 23 november 2018 om 12:58

16

Aan: DEC

Onderwerp: Status AVD 10.2.g 20186344

Beste 10.2.e

Op 31-08-2018 hebben wij advies gevraagd over AVD 10.2.g 20186344. Vervolgens hebben wij bericht ontvangen dat de aanvraag besproken zal worden in de vergadering van 07-09-2018. Wij zijn aan het inventariseren welke DEC-adviezen wij binnenkort kunnen verwachten. Kunt u aangeven wat de stand van zaken is en indien mogelijk in welke maand u verwacht dat het DEC-advies naar de CCD wordt gezonden?

Met vriendelijke groet,

10.2.e

Namens

Centrale Commissie Dierproeven

www.centralecommissiedierproeven.nl

.....
Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag
.....

T: 0900-2800028

E: info@zbo-ccd.nl

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.

10.2.g