

Format DEC-advies AVD 10.2.g 2021 114411

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

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

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD 10.2.g 2021 114411
2. Titel van het project: 10.2.g
3. Titel van de NTS: Het in kaart brengen van de hersennetwerken die betrokken zijn bij visuele waarneming in het primaten brein.
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
 - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: 10.2.g
 - telefoonnummer contactpersoon: 10.2.e
 - e-mailadres contactpersoon: 10.2.g
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC: 19-01-2021
 - aanvraag compleet: 03-02-2021
 - in vergadering besproken: 21-01-2021
 - anderszins behandeld: niet van toepassing
 - termijnonderbreking(en) van 25-01-2017 tot 03-02-2021
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen: niet van toepassing
 - aanpassing aanvraag: finale herziene versie ontvangen op 03-02-2021
 - advies aan CCD: 15-02-2021.
7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD.
De IvD geeft aan dat de aanvrager de aanvraag met de IvD heeft afgestemd en dat de aanvraag de instemming heeft van de 10.2.g

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

8. Eventueel horen van aanvrager:

- Datum: 21-01-2021
- Plaats: 10.2.g
- Aantal aanwezige DEC-leden: 6
- Aanwezige (namens) aanvrager: verantwoordelijke onderzoeker.
- Gestelde vraag / vragen: De mondeling gestelde vragen zijn na afloop van de vergadering ook schriftelijk aan de aanvrager gestuurd. De schriftelijk gestelde vragen (zie onder punt 9; brief 25-01-2021) hebben geresulteerd in aanpassingen van de aanvraag.
- Verstrekt(e) antwoord(en): zie punt vraag 9
- Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag wel; zie onder vraag 9.

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum brief van de DEC: 25-01-2021.

Gestelde vragen (een samenvatting)

Vragen 10.2.g in blauw; antwoord in rood; reactie DEC op de antwoorden in groen

1. De DEC is wat ongerust over het grote aantal gaten dat in de loop van het project wordt gemaakt in de schedel van de apen. Er worden 10.2.g

b. Is er mogelijk een cumulatief effect van de herhaaldelijke minimale schade die ontstaat door 10.2.g waardoor de aap een afwijkend gedrag zou kunnen gaan vertonen of dat het ongerief toeneemt?

Deze mogelijkheid is niet uit te sluiten maar we achten de kans klein. Het gedrag en welzijn van de dieren wordt als gebruikelijk continu gemonitord en bij afwijkingen hebben we de beschikking over beeldvormende technieken (MRI, CT) voor nadere inspectie. Het aantal electrode penetraties per gebied is veel lager dan in conventionele studies wat de lokale schade beperkt. Een cumulatief effect van verspreide minimale schade is ons niet bekend en zal vergelijkbaar of minder zijn dan de schade die ontstaat bij hetzelfde aantal inserties in een enkel kamertje.

c. Hoeveel ervaring is er al met zoveel gaten in de schedel en penetraties in een groot aantal depegelegen hersengebieden in NHP of ratten of muizen?

In knaagdieren wordt vaker gekozen voor het simultaan meten aan enkele probes en blijft het aantal verschillende gebieden dat binnen 1 dier wordt bemeaten meestal beperkt maar zal de het aantal penetraties per cm³ hoger zijn. Ook zitten knaagdieren vaak minder lang in het experiment en wordt de voorkeur gegeven aan grotere aantallen dieren. Om deze reden is dergelijke ervaring niet aanwezig. Voor histologische verificatie van penetraties in is in muizen een kleurstof vereist omdat het op basis van mogelijk weefselschade niet is waar te nemen (zie bijvoorbeeld 10.2.e). In NHPs is de methode van het aanbrengen van meerdere kleine gaatjes al wel succesvol eerder toegepast. Wij hebben contact gehad met twee groepen die deze methode met succes hebben toegepast zonder daarbij cumulatieve problemen waar te nemen. De kleine gaatjes in de schedel groeien in enkele weken dicht als ze niet actief worden opgehouden, wat duidt op goed herstel. 10.2.g

d. Is er een risico op het doorsnijden van axonale zenuwbundels?

Bij de penetratie van hersenweefsel met een electrode is er altijd enig risico op schade aan vezelbundels. Dit risico wordt echter geminimaliseerd door de electrode-trajecten vooraf te plannen op basis van beeldvormende technieken zoals MRI, en door de electrode langzaam in te brengen. De ervaring van operaties bij mensen voor diepe hersenstimulatie en EEG-electroden voor epilepsiepatiënten is dat dit soort schade vrijwel onmerkbaar is, terwijl die elektroden een doorsnede hebben van 1.3 mm, waarvan het oppervlak van deze doorsnede dus 100x groter is.

e. Is er geen groter risico met deze techniek om op lange termijn schade door het raken van een bloedvat?

Bij de penetratie van hersenweefsel met een electrode is er altijd enig risico op schade aan bloedvaten. 10.2.g

Dat wordt gecompenseerd door het gebruik van dunnere elektrodes, de planning van de elektrode-trajecten op basis van beeldvormende technieken zoals MRI, en door de elektrode langzaam in te brengen. In onze langjarige ervaring met deze techniek in conventionele kamertjes zijn twee keer aanwijzingen geweest voor een bloeding met herstel na 1 dag.

f. Wordt een guide canule gebruikt om de dunne electrode langs een rechte baan de hersenen in te krijgen?

Zoals beschreven zal een korte guide-canule worden gebruikt voor het passeren van de dura, maar in het brein zal de electrode niet door een lange guide-canule gaan omdat de meetpunten zich over de gehele lengte van de probe bevinden.

Reactie DEC: De aanvullende informatie maakt voor de DEC duidelijk dat de risico's beperkt zijn en dat door een zorgvuldige planning en monitoring schade voorkomen wordt en eventuele gedragsafwijkingen tijdig worden opgemerkt.

2. Nieuwe technische mogelijkheden brengen ook nieuwe problemen met zich mee vooral als je staat aan het begin van hun ontwikkeling.

a. Is de leercurve ver genoeg gevorderd om in apen te beginnen? Is het niet beter te beginnen bij lagere diersoorten zoals katten met dezelfde hersenomvang of met een aantal terminale experimenten of kadavermateriaal om je zo te bekwamen in deze techniek en om eventuele technische tekortkomingen voor te zijn en problemen op te lossen?

Onze groep heeft ruime ervaring met het doen van metingen met acuut ingebrachte elektrodes, zowel metaal- als silicium-elektrodes. Het gebruik van een guide-tube is hierbij ook standaardprocedure. Er is 10.2.g uitgebreide ervaring met hetzelfde type probes voor muizen en wij hebben vergelijkbare grids geïmplantéerd voor een enkel kamertje. Die operaties verliepen zonder complicatie. We hebben daarom voldoende ervaring opgedaan met vergelijkbare technieken om dit nu in apen uit te testen.

b. Is het fysieke gedrag en flexibiliteit van de electrode in relatie tot het in de hersenen gevolgd traject voldoende getest? Of is alles al uitvoerig genoeg getest en is de tijd rijp voor studies in NHP?

Deze methode is vergelijkbaar met conventionele elektroden in apen en er is contact met andere groepen in de wereld die dezelfde probe al enige tijd gebruiken in apen 10.2.e

Zij geven aan dat het gebruik vergelijkbaar is met het gebruik van conventionele elektroden, met dat verschil dat er veel meer data binnenkomt per penetratie. Dit is ook de ervaring van knaagdieronderzoekers 10.2.g

c. De achteraf evaluatie van welke schade de probeer hebben veroorzaakt blijft een goed plan, ook wanneer het voorstudies in lagere diersoorten of kadaver hersenen zijn gedaan zijn gedaan.

Dit zijn we met de DEC eens. Deze evaluatie staat in de aanvraag en is ongewijzigd.

Reactie DEC: De aanvullende informatie maakt voor de DEC duidelijk dat er voldoende voorwerk is gedaan en dat de techniek klaar is voor gebruik in NHP.

3. De titel van de AP is wat kort door de bocht en dekt de lading van een complexe reeks handeling onvoldoende. Graag een betere titel.

De AP is uitgebreid document met een reeks handelingen die in dienst staan van de geplande metingen met high density probes. Deze handelingen omvatten huisvesting, training, chirurgische handelingen, en de metingen zelf. De oorspronkelijke titel 10.2.g

legt daarbij de nadruk op deze metingen. Om aan te geven dat deze reeks handelingen ook noodzakelijk is stellen we voor de titel aan te passen naar 'Procedures for the preparation and execution of high-density electrode recordings in awake-behaving monkeys.' Het in detail benoemen van alle soorten handelingen in de titel zou deze naar onze mening ongewenst complex maken.

Reactie DEC: Akkoord.

4. Wat is het uiteindelijke doel van dit onderzoek? Wat is belangrijker, bestuderen van zoveel mogelijke gebieden (op een sequentieel manier) of is doel informatie te krijgen wat de samenhang is van alle hersengebieden bij het uitvoeren van een visuele taak. Dat laatste lijkt het geval te zijn; het in kaart brengen van de netwerkactiviteit (gedurende een aantal seconden in de context van een bewuste visuele waarneming) door een extrapolatie van de data die sequentieel verkregen zijn over een periode van maanden. Wanneer het onderzoek zich in feite richt op netwerkactiviteit van het hele brein dan komt dit niet goed naar voren in de NTS. De synthese van de verkregen data op meerdere plaatsen tot netwerkactiviteit is onvoldoende duidelijk beschreven.

Beide in de vraag genoemde doelen spelen een rol. De aggregatie van data uit zoveel mogelijk gebieden in de context van een aantal belangrijke cognitieve functies is het belangrijkste doel. Doordat deze data over verschillende sessies verkregen zal worden is een directe netwerkbenadering niet mogelijk. Deze is wel mogelijk binnen de neuronen en gebieden die tegelijk worden gemeten in dezelfde sessie. Toch kunnen we verschillende sessies met dezelfde taak gebruiken en analyseren als 'pseudo-populatie' en de activiteit in de tijd te relateren aan de taak componenten, zoals in veel eerdere studies ook is gedaan. Op deze wijze zijn toch "pseudo" netwerk-gerelateerde analyses mogelijk op de volledige datasets. Door de dataset bovendien beschikbaar te stellen aan derden maken we het mogelijk dat diverse nieuwe analyses kunnen worden ontwikkeld en hypothesen worden getest die verder strekken dat het primaire doel van deze aanvraag.

Reactie DEC: Het antwoord bevestigt de impressie die de DEC had gekregen dat de beschrijving van de netwerkactiviteit wordt verkregen door een synthese van de data in de verschillende hersengebieden. Het delen van de dataset wordt door de DEC als zeer positief ervaren. Het indirect belang van de verkregen data wordt daarmee vergroot.

5. Kan je ook delen van de hersenen experimenteel inactiveren zodat je bij een volgende test weet dat die niet meer mee doet en dan kijkt of een ander gebied nog steeds geactiveerd wordt? Zou je op die manier niet een bewijs in handen kunnen krijgen welke activiteit of welke gebieden essentieel zijn voor de visuele taak en visuele bewustwording en wat causale relaties zijn.

Deze vraag raakt aan een belangrijke kwestie in de neurowetenschappen: correlatie of causaliteit? Causale verbanden in het brein of tussen hersenactiviteit en gedrag kunnen het best bestudeerd worden met behulp van perturbatie technieken zoals elektrische of optogenetische stimulatie, of chemische (in)activatie. Onze groep onderschrijft deze belangrijke vraag en houdt zich hier in diverse projecten mee bezig. Correlatieve studies zijn echter ook bijzonder waardevol. Zo is het voor een perturbatie studie bijvoorbeeld van groot belang om te weten waar en wanneer een perturbatie het best gedaan kan worden om een causaal mechanisme te ontrafelen. In de context van dit voorstel zou het te ver voeren om deze perturbaties toe te passen, voordat de betrokkenheid van de vele hersengebieden in kaart is gebracht. Dergelijk (in)activatie-studies, in combinatie met high-density recordings, zouden in de toekomst zeker meerwaarde hebben.

Reactie DEC: De vraag is gesteld om een wat beter beeld te krijgen over de wetenschappelijke waarde van de data. In/activatie studies zijn in dit stadium van het onderzoek een stap te ver.

6. Hoe wordt hersenactiviteit die samenhangt met bijvoorbeeld een oogbeweging of anticipatie op een beloning onderscheiden van de activiteit die een rol speelt bij de visuele waarneming en bewustwording?

De verschillende cognitieve componenten die zullen worden onderzocht worden in het experimentele design van elkaar gescheiden (1) in de tijd, en (2) door middel van taak aanpassingen. Visuele aspecten spelen bijvoorbeeld met name een rol aan het begin van een trial in de beschreven 'Texture-defined Curve-tracing' taak. Hierna volgt een periode waarin het werkgeheugen een rol speelt, gevolgd door een fase waarin de response wordt voorbereid, en een feedback-periode met beloning. Om bijvoorbeeld oogbewegingsplanning te onderscheiden van een meer algemene vorm van werkgeheugen is het mogelijk om de activiteit in een oogbewegingstaak te vergelijken met de activiteit in een taak waarin een handbeweging wordt uitgevoerd.

Reactie DEC: Akkoord.

7. Graag nog een keer helder uitleggen waarom dit onderzoek niet in muis/rat of kat kan worden uitgevoerd?

Knaagdieren zoals muizen en ratten zijn beperkter in de cognitieve functies waarin we geïnteresseerd zijn. Waar primaten een fovea bezitten voor gedetailleerde visuele waarneming, ontbreekt deze in knaagdieren en katten. Hierdoor zijn ook de oogbewegingen die knaagdieren en katten maken van een fundamenteel andere aard dan in primaten. Aandachtsprocessen (onafhankelijk van oog/kopbewegingen) die in primaten een belangrijke rol spelen in visuele cognitie lijken daarnaast in belangrijke mate afwezig in knaagdieren en katten. De organisatie van visuele gebieden in het brein is bovendien anders in knaagdieren/katten dan in primaten, waardoor er voor diverse gebieden in het primatenbrein geen homolog gebied lijkt te zijn. Verschillen zijn er

ook in de frontale cortex die bij knaagdieren en katten aanzienlijk minder ontwikkeld is en de verbindingen hiervan met de subcorticale basale ganglia.

Reactie DEC: Dit is voor de DEC belangrijke informatie om een opvatting te formuleren of NHP noodzakelijk zijn voor het bereiken van de doelstelling. Het antwoord is overtuigend.

8. Wanneer wordt de derde aap geïncorporeerd in het project? Beschrijf welke redenen en wat de criteria hiervoor denkbaar zijn. Uit je mondelingen antwoord bleek dat dit vooral in verband staat met problemen rondom het leervermogen en coöperatie van de primaten en dat niet de verwachting is dat wetenschappelijke redenen de aanleiding zullen zijn tot het gebruik van een derde aap. Zijn historische gegevens beschikbaar voor het inzetten van een derde dier binnen een van voorgaande projecten met NHP?

Er zijn een aantal mogelijke redenen voor het includeren van een additioneel dier: 1) De neuronale data van de oorspronkelijk deelnemende dieren (meestal 2) is niet eenduidig, of 2) Een dier blijkt niet in staat een bepaalde taak naar behoren te leren of heeft een afwijkende strategie ontwikkeld om een taak uit te voeren 3) we bereiken een humaan eindpunt bij een van de dieren voordat de data set compleet is. We schatten, op basis van ervaringen uit het verleden met vergelijkbare procedures, dat voor dit project er een kans van 25% is op het inzetten van een derde dier.

Reactie DEC: Akkoord.

9. De procedures zijn goed beschreven. Maar eigenlijk heb je een goede basis set van stimuli nodig om te begrijpen wat je eigenlijk aan het meten bent. Als je de basis responses van receptieve veld in de hersenen niet weet kan je je data set niet goed interpreteren. Hierover staat niks in het protocol. Uit het mondelinge antwoord op deze vraag blijkt dat dit wel gaat gebeuren. De ontbrekende informatie moet worden gegeven in de herziene versie van de aanvraag.

Wij bedanken de DEC voor deze opmerking. Het karakteriseren van basis-eigenschappen van de neuronen waarvan de activiteit wordt gemeten is een (relatief kortdurende) standaardprocedure in het lab die, zoals terecht opgemerkt, niet expliciet in de aanvraag wordt benoemd. Doordat de voorgestelde high-density probes vele neuronen tegelijk meten is het niet mogelijk iedere cel in detail 'online' te karakteriseren omdat dit te veel tijd zou kosten. Wel zal een standaard karakterisering worden gedaan aan het begin van een meting. Hierbij zullen we o.a. een stimulus laten zien waarmee de receptieve velden van neuronen kunnen worden bepaald.

Reactie DEC: Akkoord.

10. Is het denkbaar dat je als een derde aap nodig mocht zijn je in tijdnood komt?

We achten dit niet erg waarschijnlijk, maar het is ook nooit volledig uit te sluiten. De inclusie van een derde dier kan gebeuren onder de bij vraag 8 aangegeven redenen. Als een dier de taken niet leert zal dit doorgaans vroegtijdig duidelijk zijn. Slechts in de meest ongunstige situatie waarin een humaan eindpunt wordt bereikt tegen het eind van de experimenten zal mogelijk naar een oplossing moeten worden gezocht. In vrijwel alle andere denkbare scenario's zou het geen probleem moeten zijn drie dieren te testen.

Reactie DEC: Akkoord.

- Datum antwoord: 03-01-2021

- Verstrek(e) antwoord(en): De aanvrager heeft in de herziene versie de aanvraag gecomplementeerd op bovenstaande punten en de gevraagde aanpassingen doorgevoerd.

Via een schriftelijke ronde van de herziene aanvraag heeft de DEC geconcludeerd dat alle vragen en opmerkingen naar tevredenheid zijn beantwoord. De gevraagde aanvullende informatie is verwerkt in de finale versie van de aanvraag. Het DEC-advies is gebaseerd op de herziene versie.

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



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

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

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

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft (*Zie handreiking 'Invulling definitie project'; zie bijlage I voor toelichting en voorbeeld*).
Deze aanvraag heeft als hoofddoelstelling: "to reveal the contributions of subcortical and cortical areas to fundamental visual cognitive processes including object recognition, scene segmentation, attentional selection, working memory and consciousness".
Vertaald door de DEC als *het in kaart brengen hoe verschillende subcorticale en corticale hersengebieden bijdragen aan fundamentele aspecten van visuele cognitie, zoals het onderscheiden en herkennen van visuele objecten, het aansturen van aandacht en werkgeheugen, en het tot stand brengen van bewustzijn.*

De verwerking van visuele stimuli is in belangrijke mate sturend voor ons gedrag. Er is bij de verwerking van visuele stimuli een sterke interactie met cognitieve processen als aandacht, besluitvorming en geheugen en bewustzijn. Het primaire visuele systeem kent dan ook vele anatomische verbindingen tussen vele hersencentra. Bij het uitvoeren van complexe cognitieve taken werken al deze hersencentra in een groot neuronaal netwerk samen. De huidige kennis over welke gebieden op welke manier betrokken zijn in dit netwerk is beperkt tot de corticale gebieden die relatief eenvoudig te bereiken zijn voor elektrofysiologische afleidingen met een hoge spatiële resolutie (tot op celniveau) en een hoge temporele resolutie. Echter gedetailleerde kennis over de betrokkenheid van de dieper gelegen subcorticale gebieden binnen dit netwerk is nauwelijks beschikbaar; fMRI metingen laten weliswaar zien dat deze gebieden ook geactiveerd worden maar gedetailleerde elektrofysiologische gegevens ontbreken. Deze kennis is van belang omdat een aantal ziektes, zoals ADHD, autisme spectrum, schizofrenie en de ziekte van Alzheimer, een afwijkende activiteit in subcorticale gebieden of atypische subcorticale - corticale verbindingen laten zien die gepaard gaan met problemen in de cognitieve verwerking van visuele informatie. Het lijkt erop dat het netwerk dat betrokken is bij visuele informatieverwerking nog niet volledig in kaart is gebracht omdat de diepe hersengebieden niet zijn bestudeerd. Nieuwe technische ontwikkelingen hebben het mogelijk gemaakt een lange dunne elektrode te maken met vele afleidpunten;   Met deze probe is het mogelijk om langs de hele lengte van de elektrode gedetailleerde elektrofysiologische afleidingen van de neuronale activiteit te doen en om zo corticale en subcorticale gebieden te meten. Door de registraties systematisch vele malen te herhalen en op veel verschillende plaatsen in de hersenen is

het mogelijk om door synthese van de gegevens een goed beeld te krijgen van het gehele activiteitspatroon dat onderliggend is aan de uitvoering van een specifieke visueel/cognitieve taak.

Het onderzoek wordt uitgevoerd in twee of hooguit drie apen die een tweetal complexe taken leren: Texture-Defined Curve-Tracing (TDCT) en Threshold for Conscious Report (CRT). De taken vragen een hoge cognitieve vaardigheid om zo de betrokkenheid van zoveel mogelijk hersengebieden af te dwingen; alleen apen zijn hiervoor geschikt. De aanvrager heeft op een vraag van de DEC nog een keer helder uitgelegd waarom knaagdieren of katten niet geschikt zijn om de doelstelling te behalen en dat het gebruik van apen noodzakelijk is. De 10.2.g is al getest in knaagdieren en de techniek is klaar om gebruikt te worden in NHP (er is ervaring in een ander instituut waarmee een samenwerking is). Door de grote anatomische overeenkomst van de hersenen van aap en mens geeft de verkregen dataset inzicht in de netwerkactiviteit die betrokken is bij de verwerking van visuele informatie in de mens.

Uit de projectbeschrijving en bijlage is duidelijk welke handelingen individuele dieren zullen ondergaan. Hierdoor is ook duidelijk welke procedures en welk ongerief individuele dieren zullen ondergaan. De DEC heeft de overtuiging dat de aanvrager gedurende het project op zorgvuldige wijze besluiten zal nemen over de voortgang van het project en dat er niet onnodig dieren gebruikt zullen worden.

Gezien het bovenstaande komt de DEC tot de conclusie dat de aanvraag voldoende samenhang heeft en daarmee toetsbaar is.

2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Wet Natuurbescherming). De DEC heeft geen redenen om te signaleren dat er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Dit mede op basis van de afstemming van de aanvraag met de IvD en het feit dat de aanvrager hier geen melding van maakt in de beantwoording van vraag 3.2.3.
3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelestellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel.
De doelcategorie –fundamenteel onderzoek- sluit aan bij de hoofddoelstelling.

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C4; zie bijlage I voor voorbeeld*).

De verkregen fundamentele kennis draagt bij nieuwe wetenschappelijke inzichten hoe verschillende subcorticale en corticale hersengebieden bijdragen aan fundamentele aspecten van visuele cognitie, zoals het onderscheiden en herkennen van visuele objecten, het aansturen van aandacht en werkgeheugen, en het tot stand brengen van bewustzijn. De aanvrager heeft duidelijk gemaakt wat de status van het onderzoeksveld is in de stand van zaken in de wetenschap. De betrokkenheid van met name subcorticale hersengebieden bij de verwerking van visuele signalen en de betrokkenheid bij de cognitieve reactie op visuele informatie is bekend maar de neuronale activiteit van die gebieden en de betrokken netwerken is nog niet goed in kaart gebracht met gedetailleerde elektrofysiologische afleidingen. De DEC is van opvatting dat het directe doel van het project gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld en dat het voorgestelde onderzoek met de voorgestelde aanpak haalbaar is (zie C6 en C7 voor een onderbouwing).

De cognitieve verwerking visuele informatie is een fundamentele component van ons functioneren als mens en verstoringen in subcorticale gebieden leiden tot grote gevolgen cognitieve verwerking van en reactie op visuele informatie. De aanvrager verwijst naar meerdere publicaties die bewijs aanleveren dat ADHD, autisme spectrum, schizofrenie, en de ziekte van Alzheimer geassocieerd zijn met afwijkende activiteit in subcorticale gebieden en atypische verbindingen tussen subcorticale en corticale hersengebieden. De verkregen nieuwe wetenschappelijke kennis draagt op termijn bij aan het beter begrijpen wat de gevolgen zijn schade in de betrokken specifieke hersengebieden voor visuele cognitie, bewustzijn en aandacht in de mens (het uiteindelijke doel). Op termijn kunnen ook betere targets voor diepe hersenstimulatie worden gevonden waarmee deze behandeling van compulsiviteit en Parkinson kan worden verbeterd. Er is naar opvatting van de DEC een relatie tussen het directe en uiteindelijke doel; dit is een reële, indirecte en navolgbare relatie.

5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld*)

De belangrijkste belanghebbenden in dit onderzoeksproject zijn:

> De maximaal 3 resusapen. De integriteit van de dieren zal op verschillende manieren worden aangetast. Door de gevangenschap zullen de dieren geen natuurlijk (groeps)gedrag kunnen ontplooiën zoals onder meer natuurlijke omstandigheden. De dieren zullen verschillende periodes van tijdelijk matig ongerief ondervinden ten gevolge van meerdere chirurgische ingrepen die ze in de loop van de proef zullen ondergaan. Tijdens de uitvoering van de complexe gedragstaken zullen de dieren met hun hoofd worden vastgezet, en zullen ze periodes van dorstgevoelens ondervinden. Na afloop van de proef zullen de dieren worden gedood.

> De bij de uitvoering van het project betrokken onderzoekers. Zij zullen een substantiële toename in kennis en vaardigheden verkrijgen. De carrièremogelijkheden van de onderzoekers zullen verbeteren door publicaties. Ook de kans op het behouden en verkrijgen van nieuwe onderzoeksmogelijkheden, veelal deels gebaseerd op een goede wetenschappelijke reputatie, zal toenemen. Deze waarden zijn naar opvatting van de DEC echter van gering gewicht in de ethische afweging.

> Onderzoekers in het veld van de neurobiologie, neuropsychobiologie en neuropsychiatrie. Dit onderzoek is voornamelijk van fundamenteel-wetenschappelijke aard en de te verwachten toename van de kennis over de betrokkenheid van

subcorticale hersengebieden in de verwerking van visuele informatie zal worden gedeeld met andere onderzoekers via publicaties en door het beschikbaar stellen van de dataset. De wetenschappelijke resultaten zijn van algemeen belang om de werking van het brein beter te begrijpen en zullen bijdragen aan een beter begrip van aandachtstoornissen.

> De doelgroepen in de maatschappij. De cognitieve verwerking van visuele informatie is een fundamenteel biologisch proces en speelt een cruciale rol in vrijwel al onze gedragingen. Het is moeilijk aan te geven wat de uiteindelijke reikwijdte van de verkregen kennis is. Wel zijn er specifieke en grote patiëntenpopulaties aan te geven (ADHD, autisme, schizofrenie en de ziekte van Alzheimer) waar problemen met (visuele) aandacht en bewustzijn een rol spelen. Dit is op zich een zeer groot belang maar het project zal pas op lange termijn concrete resultaten opleveren die in deze context van waarde zijn voor patiënten.

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

Proefopzet en haalbaarheid

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

Gezien de trackrecord en het al verrichte vooronderzoek van de groep is de DEC ervan overtuigd dat de aanvrager over voldoende expertise en de geschikte infrastructuur beschikt om de projectdoelstelling met de gekozen strategie/aanpak binnen de gevraagde termijn te realiseren. De voorstellen bouwen voort op de ruime kennis en ervaring die is verkregen door de uitvoering van technisch sterk vergelijkbare experimenten met resusapen binnen de groep. De benodigde kennis en ervaring m.b.t. het gebruik van de **10.2.g** is aanwezig binnen de groep en het instituut heeft een samenwerking met een ander lab op het terrein van de toepassing van de probes in apen.

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

8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C6*).

Het directe doel van het project is *het in kaart brengen hoe verschillende subcorticale en corticale hersengebieden bijdragen aan fundamentele aspecten van visuele cognitie, zoals het onderscheiden en herkennen van visuele objecten, het aansturen van aandacht en werkgeheugen, en het tot stand brengen van bewustzijn*. Uit het reeds verrichtte onderzoek van de groep is gebleken dat het goed mogelijk is resusapen te trainen op beide beschreven gedragstaken, TDCT en CRT, en dat de groep hiermee ruime ervaring heeft.

De DEC is van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen van het project en bij recente wetenschappelijke inzichten. De DEC acht het reëel om te veronderstellen dat op basis van de resultaten van de voorgenomen reeks experimenten beschreven in het project, veel nieuwe en/of aanvullende kennis zal worden verkregen. De keuze van het model en de keuze voor de resusaap als proefdier zijn gerechtvaardigd (zie C9). Tijdens de uitvoering van het project zullen de in de aanvraag beschreven kaders, inclusief de kaders van ongerief, nauwgezet door de IvD bewaakt worden. Dit is inclusief

de dieren die op dit moment al worden gebruikt bij proeven die door de DEC onder de oude Wod zijn goedgekeurd. Deze proeven zullen door de IvD worden getoetst of ze inderdaad passen binnen het kader van deze aanvraag, de wetenschappelijke opzet wordt gezien en er wordt bekeken of de ongeriefsaspecten overeenkomen met het in de aanvraag geschatte niveau van ongerief.

Welzijn dieren

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

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

De doelstellingen van het project vallen binnen de voorwaarden die door de Wod aan het gebruik van niet-menselijke primaten worden verbonden. De DEC heeft stilgestaan bij de vraag of de keuze voor de resusaap als proefdier voldoende is onderbouwd en hierover is aanvullende informatie gevraagd. Voor de proeven is het essentieel dat de proefdieren in staat zijn om hun visuele aandacht te verleggen zonder gelijktijdige oogbeweging naar het object van aandacht. Andere diersoorten (i.h.b. knaagdieren) die mogelijk als "lager" worden gekenschetst dan de niet-humane primaten zijn niet geschikt door de hoge mate van complexiteit van de benodigde visuele gedragstaken. "Waar primaten een fovea bezitten voor gedetailleerde visuele waarneming, ontbreekt deze in knaagdieren en katten. Hierdoor zijn ook de oogbewegingen die knaagdieren en katten maken van een fundamenteel andere aard dan in primaten. Aandachtsprocessen (onafhankelijk van oog/kopbewegingen) die in primaten een belangrijke rol spelen in visuele cognitie lijken daarnaast in belangrijke mate afwezig in knaagdieren en katten. De organisatie van visuele gebieden in het brein is bovendien anders in knaagdieren/katten dan in primaten, waardoor er voor diverse gebieden in het primatenbrein geen homoloog gebied lijkt te zijn. Verschillen zijn er ook in de frontale cortex die bij knaagdieren en katten aanzienlijk minder ontwikkeld is en de verbindingen hiervan met de subcorticale basale ganglia." De grote overeenkomsten tussen de hersenanatomie van mens en de resusaap is een belangrijk aspect om uiteindelijk een translatie naar de mens te kunnen maken.

Er bestaan geen alternatieven op basis van (stam)cellijnen of computermodellen. Ook is het niet mogelijk om dit onderzoek in de mens uit te voeren (zie C14).

De DEC komt tot de conclusie dat voor het bereiken van de doelstelling de inzet van resusapen (*Macaca mulatta*) noodzakelijk is.

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze

minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe.

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

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

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

De DEC heeft geïnformeerd of de vele penetraties, **10.2.g** zou kunnen leiden tot hersenschade en mogelijk ongerief. Dit is niet geheel uit te sluiten maar op basis van de ervaring van de aanvrager met het doen van vele afleidingen in de visuele cortex met conventionele elektroden in hetzelfde dier is het aannemelijk dat dit risico als klein moet worden ingeschat. Voorafgaand aan de afleidingen worden grote bloedvaten in kaart gebracht om zo beschadiging van bloedvaten bij het plaatsen van de elektrodes te kunnen vermijden.

Het cumulatieve ongerief is door de onderzoekers ingeschat als matig. De DEC onderkent dat de classificering van het cumulatieve ongerief voor dit type dierproeven niet eenvoudig is; dit is in eerdere adviezen al als dilemma genoemd. De proeven lopen over meerdere jaren en de dieren ondergaan in die periode meerdere (maximaal 14x gepland) chirurgische ingrepen met telkens periodes van maximaal 1-2 dagen met matig ongerief gevolgd door 2-7 dagen licht ongerief en daarnaast verschillende langere periodes waarin de aap gedragstaken moet uitvoeren onder milde druk van waterrestrictie (mild ongerief).

Het lijkt aannemelijk dat niet-humane primaten, met hun hoge sociale intelligentie, sterk reageren en anticiperen op terugkerende momenten van ongerief die zich gedurende een lange periode in hun leven voordoen. Het is echter de vraag of het cumulatieve ongerief om die reden hoger ingeschat moet worden dan het matige ongerief van de afzonderlijke handelingen en dus bijvoorbeeld ingeschat zou moeten worden als ernstig. De DEC meent dat waarnemingen bij eerdere experimenten van vergelijkbare aard bij de aanvragende instelling geen feiten en omstandigheden hebben opgeleverd die aan die opvatting concrete steun geven. Door het langzaam laten wennen van de dieren aan de huisvesting en de gedragstaken ontstaat een situatie waarbij de dieren coöperatief zijn en dat er geen sprake is van een grote psychische of fysieke belasting van de dieren tijdens de uitvoering van de gedragstaken. Recent gepubliceerde studies naar het cumulatief ongerief bij vergelijkbare experimenten bij andere instellingen geven steun aan de inschatting als matig van het cumulatief ongerief (Pickard, 2013 en Prescott 2010). Bij het gebruik van andere diersoorten is het onwaarschijnlijk dat een vergelijkbare situatie kan worden gecreëerd en bij het gebruik van bijvoorbeeld honden, katten, fretten of varkens zou er eerder sprake zijn van ernstig ongerief. Alles overwegende komt de DEC tot het oordeel dat een inschatting "cumulatief matig ongerief" op zich een goede weergave is van het ongerief in het licht van wat er in de Wet op de dierproeven bedoeld wordt met de term "ongerief" en classificatie "matig".

Dit alles neemt niet weg dat de DEC oog heeft voor het feit dat het zeer langdurige

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

In de aanvraag is er sprake van de mogelijkheid dat de dieren instromen vanuit andere projecten. Dit is aan de voorwaarde gebonden dat dieren geen intracraniale implantatie hebben. Het voordeel van de geschetste praktijk van hergebruik is dat het totaal aantal gebruikte dieren hierdoor zal kunnen verminderen. Het nadeel is dat het ongerief voor een individueel dier zal toenemen maar dat een extra periode van gewenning aan de faciliteit en trainingsprocedures wordt voorkomen. De DEC volgt de motivering van de aanvragers m.b.t. het gebruik van een dier voor vervolgentexperimenten maar omdat het ongerief van het individuele dier groter wordt is het ook denkbaar dat het gebruik van meer dieren te prefereren is. De DEC heeft dit in een eerder advies als dilemma benoemd.

12. Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake is van aantasting van integriteit. (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). (zie bijlage I voor voorbeeld).

De integriteit van de dieren zal op de volgende manieren worden aangetast.

Gedragsmatig en sociaal: Door het leven in gevangenschap zullen de dieren zich niet kunnen ontplooiën zoals in een zelfstandig bestaan in groepsverband in natuurlijke omstandigheden. De dieren worden weliswaar paarsgewijs gehuisvest, dit is een belangrijke verbetering t.o.v. solitaire huisvesting, maar het stelt de resusapen niet in staat om een normale sociale groepsstructuur te vormen. Ook met de talrijke "verrijkings" die de dieren worden verstrekt, kan niet volledig worden voldaan aan hun sociale en psychische behoeften. Prikkel en omstandigheden waaraan de dieren in natuurlijke omstandigheden voldoening of welzijn zouden ontleen worden zoveel mogelijk nagebootst of vervangen door andere prikkels en omstandigheden waarvan men aanneemt dat die een vergelijkbaar effect zullen hebben. Feit blijft echter dat het om een kunstmatige omgeving gaat waarin men onvermijdelijk op beperkingen stuit. Er worden de dieren ervaringen die hen voldoening en plezier geven onthouden (zie ook C11).

Fysiek: Ten behoeve van de experimenten worden diverse implantaten aangebracht. Tijdens de uitvoering van de complexe gedragstaken zullen de dieren met hun hoofd worden vastgezet met behulp van de aangebrachte implantaten (head-post). Gedurende de looptijd van het project worden, in de op de schedel aangebrachte kamertjes, een groot aantal, weliswaar kleine, gaten aangebracht in de schedel van de apen. **10.2.g**

[REDACTED]

[REDACTED] Het aantal elektrode penetraties per hersengebied is met deze techniek kleiner dan bij de conventionele methode. Het inbrengen van de elektrodes veroorzaakt naar verwachting geen noemenswaardige schade aan de hersenen en de gaten die in de kamers gemaakt worden zijn klein en groeien binnen enkele weken weer dicht. Na

afloop van de proef, of na hergebruik, zullen de dieren worden gedood voor histologische verificatie van de afleidposities en het vaststellen van eventuele gevolgschade aan de hersenen veroorzaakt door de elektrode penetraties.

Het maken van zoveel gaten in de schedel, de invasiviteit van de metingen in de hersenen en het instrumentele gebruik, dat nog wordt benadrukt door de uitvoerige instrumentatie van de dieren en het vastzetten van het hoofd van de dieren, vormen op zichzelf echter wel een aantasting van de integriteit van de dieren.

- 13.** Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).
De humane eindpunten zijn duidelijk gedefinieerd. De DEC is het met de aanvrager eens dat de kans klein is dat de dieren een humaan eindpunt op basis van klinische overwegingen zullen bereiken; dit op basis van ervaring. De aanvrager zal gedurende de gehele uitvoering van de proef het welzijn nauwgezet monitoren. De DEC is daarom van mening dat de aanvrager, indien de dieren toch een humaan eindpunt bereiken, tijdig in kan grijpen om onnodig lijden te voorkomen.

3V's

- 14.** Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

De DEC is van mening dat de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen vervangingsalternatieven zijn. De voorgestelde proeven zijn niet mogelijk in de mens gezien de risico's van het herhaald inbrengen van elektrodes en de kans op levensbedreigende infecties rondom het implantaat. Het gebruik van niet-invasieve methodes bij de mens zal niet resulteren in het behalen van het gestelde doel.

De zeer grote overeenkomsten in gedrag tussen de resusaap en de mens maakt dat het gebruik van deze soort de beste kans biedt op het realiseren van de doelstelling en het verhoogt de kans op een toekomstige translatie naar de mens. Het is evenmin mogelijk om de onderzoeksvragen te beantwoorden met andere diersoorten dan NHP's (zie C9 voor een uitvoerige argumentatie).

De DEC is tot de conclusie gekomen dat voor het bereiken van de doelstelling de inzet van niet-menselijke apen noodzakelijk is en dat de resusaap (*Macaca mulatta*) de meest geschikte soort is.

- 15.** Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

De DEC is van mening dat het maximale aantal te gebruiken dieren realistisch is geraamd en proportioneel is ten opzichte van de gekozen strategie en de looptijd. De aanvrager verwacht dat voor het project in totaal maximaal 3 dieren nodig zijn. Een aantal van 2 dieren is gangbaar binnen in dit wetenschappelijke veld. Het is niet uit te sluiten dat er zich in de loop van het project omstandigheden voordoen die de inzet van een extra dier noodzakelijk maken. De criteria voor het gebruik van de maximaal twee extra dieren binnen het project zijn duidelijk beschreven in de aanvraag en de kans hierop wordt ingeschat als 25%.

Door de gefaseerde aanpak van het project wordt optimaal gebruik gemaakt van de proefdieren. Het gebruik van dieren vanuit andere proeven verhoogt het ongerief voor het individuele dier maar het vermindert het totaal aantal benodigde dieren voor het onderzoek van deze onderzoeksgroep als geheel. De DEC heeft dit in een eerder advies als een dilemma gesignaleerd.

- 16.** Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

De DEC heeft zich ervan verzekerd dat de aanvrager al het mogelijke heeft gedaan om het eventuele ongerief voor de proefdieren te identificeren, te verminderen en waar mogelijk te voorkomen. De dieren worden geleidelijk blootgesteld aan nieuwe aspecten van de uitvoering van de gedragstaken. Een nauwgezette registratie van de hoeveelheid gedronken water vindt plaats om zo uitdroging en schade op de langere termijn te voorkomen. De 10.2.g is vooraf getest op functionaliteit, mechanische eigenschappen en veiligheid. De chirurgische ingrepen worden door ervaren personeel uitgevoerd. De implantaten worden aangepast aan de individuele dieren zodat het de kans op complicaties wordt verminderd. De dieren worden sociaal gehuisvest in tweetallen in een verrijkte omgeving. De verwachting is dat humane eindpunten, om redenen van lijden van het dier, zelden zullen worden bereikt.

- 17.** Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Licht uw beoordeling toe. *en bestemming* Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.

Dieren in voorraad gedood dieren na afloop proef

Alle dieren in proef zullen na afloop worden gedood en het weefsel wordt voor ex-vivo studies gebruikt; voornamelijk ten behoeve van histologische doeleinden (lokalisatie van de elektrodetracks en detectie van eventuele hersenschade).

- 18.** Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3; zie bijlage I voor voorbeeld*).

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

- 19.** Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Indien van toepassing, geeft ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

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

Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is.

N.v.t. De dieren worden gedood.

NTS

20. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?

De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.A*).
Rechtvaardigt het in kaart brengen hoe verschillende subcorticale en corticale hersengebieden bijdragen aan fundamentele aspecten van visuele cognitie, zoals het onderscheiden en herkennen van visuele objecten, het aansturen van aandacht en werkgeheugen, en het tot stand brengen van bewustzijn, het cumulatieve matige ongerief dat maximaal 3 resusapen wordt aangedaan in het voorliggende project?
2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn, ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.B; zie bijlage I voor voorbeelden*).
De volgende waarden/belangen zijn in het geding (zie onderdeel C5):
Waarden/belangen met betrekking tot de proefdieren: *maximaal matig nadeel*. Dit nadeel bestaat uit meerdere periodes van matig ongerief ten gevolge van het uitvoeren van de proef en uit langere periodes van licht ongerief door de uitvoering van complexe visuele gedragstaken. De dieren zullen onder de gegeven huisvestingscondities, ondanks de uitgebreide reeks maatregelen om het welzijn te verbeteren, niet hun gehele repertoire aan natuurlijk groepsgedrag tot uiting kunnen brengen. Ook wordt instrumentarium aangebracht op de schedel en vinden een groot aantal invasieve metingen in de hersenen plaats via kleine gaatjes in de schedel. Beide laatste zaken vormen een aantasting van hun integriteit.

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

Waarden/belangen met betrekking tot de doelgroepen binnen het onderzoeksterrein van met name de neurobiologie, neuropsychobiologie en neuropsychiatrie: *veel voordeel*. Het voorgenomen project zal het inzicht in de rol van subcorticale gebieden in het onderscheiden en herkennen van visuele objecten, het aansturen van aandacht en werkgeheugen, en het tot stand brengen van bewustzijn naar verwachting substantieel vergroten. De basale kennisvergroting wordt door de DEC gezien als een *zwaarwegend en groot voordeel*.

Waarden/belangen met betrekking tot de maatschappij (patiëntengroepen, *andere wetenschapsgebieden*). De verkregen fundamentele kennis zal op termijn kunnen bijdragen aan verbeterde therapieën voor ziektebeelden waarbij de functie van subcorticale gebieden. Een aantal specifieke patiëntengroepen met dergelijke afwijkingen zijn aanwijsbaar. Het is echter niet te verwachten dat op basis van de nieuw verworven

kennis op korte termijn nieuwe of verbeterde therapieën kunnen worden opgesteld. *Op lange termijn is voordeel mogelijk maar de omvang hiervan is op dit moment moeilijk in te schatten.* Dit belang is naar opvatting van de DEC daarom van *gering gewicht* voor de ethische afweging.

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

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

- Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit resulteren in een aanmerkelijke toename van de inzichten in de rol van subcorticale gebieden in het onderscheiden en herkennen van visuele objecten, het aansturen van aandacht en werkgeheugen, en het tot stand brengen van bewustzijn. Het is aannemelijk dat deze fundamenteel wetenschappelijk kennis zal bijdragen aan nieuwe inzichten in de oorzaken van bepaalde ziektebeelden in de mens. De DEC beschouwt vergroting van fundamentele kennis op dit onderzoeksterrein als een zwaarwegend belang.
- Er zijn patiëntengroepen te definiëren. Het is het niet de verwachting dat de verkregen inzichten op de korte termijn, d.w.z. binnen de periode van het project, zullen resulteren in nieuwe effectieve behandelingen. Op de lange termijn is dit echter niet uitgesloten; het belang van deze patiënten is daarom slechts in beperkte mate in onze afweging betrokken.
- * De DEC is van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en recente wetenschappelijke inzichten en dat de gekozen strategie en experimentele aanpak zal leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project.
- * Het is aannemelijk dat de doelstellingen behaald zullen worden. Om dit doel te bereiken is het nodig resusapen te gebruiken. De onderzoekers doen er echter alles aan om het lijden van de dieren te beperken waardoor het uiteindelijk ongerief van elk individueel dier, naar verwachting, beperkt blijft tot maximaal matig ongerief. Zie voor een uitgebreide motivatie m.b.t. het ongerief onderdeel C11.
- * De DEC is overtuigd van het belang van de wetenschappelijke doelstelling en het belang van de nieuwe kennis. Verschillende subsidiegevers steunen het project.
- * De DEC heeft de overtuiging dat de aanvrager voldoende kennis en kunde heeft om de doelstellingen te behalen en tijdens de uitvoering van het project te kunnen voldoen aan de 3V-beginselen.
- * De DEC is van mening dat de aanvrager bij de uitvoering van het project alle mogelijke maatregelen treft om het ongerief van de dieren te beperken en het aantal dieren tot een minimum te beperken.

* Een positieve conclusie op elk van deze punten ziet de DEC als een noodzakelijke voorwaarde binnen de ethische afweging om te komen tot een positief besluit. Binnen dit project is naar inzicht van de DEC, op basis van alle verstrekte informatie, voldaan

Gezien bovenstaande overwegingen en conclusies is de DEC van opvatting dat het belang van de doelstelling, op de wijze zoals beschreven in deze projectaanvraag, het gebruik en het matig ongerief van proefdieren rechtvaardigt.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning te verlenen voor maximaal 3 dieren.
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
 - Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.
 - Voor de uitvoering van dit project is tevens ministeriële ontheffing vereist
 - Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten:
- De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
 - De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is om de volgende redenen:...
 - De volgende doorslaggevende ethische bezwaren:...
 - De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...

2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een meerderheidsstandpunt, specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.A; zie bijlage I voor voorbeeld*). Het advies is unaniem.

3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.B*). De DEC heeft in een eerder advies dilemma's gesignaleerd waarvan er nu twee wederom van belang zijn in het kader van de afweging van dit project: 1) het al dan niet toepassen van hergebruik, en 2) de problematische inschatting van het niveau van cumulatief ongerief (zie onderdeel C11 van dit advies)

1) Tijdens de uitvoering van de proef zullen de dieren kunnen worden gebruikt die afkomstig zijn uit andere projecten. De voorwaarden voor het hergebruik zijn helder voor de DEC en IvD en het toezicht op de correcte invulling van het hergebruik zal naar verwachting geen problemen opleveren. Het voordeel van het hergebruik is dat het aantal benodigde dieren binnen de onderzoeksgroep op deze manier zal verminderen. Het nadeel is dat het ongerief voor een individueel dier gedurende zijn leven zal toenemen maar dat een extra periode van gewenning aan de faciliteit en trainingsprocedures voor een nieuw dier wordt voorkomen. De DEC volgt de motivering van de aanvragers m.b.t. het hergebruik van een dier maar omdat het ongerief van het individuele dier groter wordt is het ook denkbaar dat het gebruik van meer dieren toch te prefereren is.

2) De inschatting van het cumulatieve ongerief is bij proeven met resusapen van een duur van meerdere jaren is niet eenduidig. Binnen de duur van het experiment zijn er

meerdere korte periodes van matig ongerief voornamelijk als gevolg van de chirurgische ingrepen. De ingrepen vinden plaats onder anesthesie en met pijnbestrijding en het matige ongerief wordt daarom voornamelijk veroorzaakt door desoriëntatie na het bijkomen uit de verdoving. Het interval tussen de ingrepen is dusdanig dat de dieren volledig herstellen. De DEC en de aanvrager schatten het cumulatief ongerief in als matig (zoals gemotiveerd in het advies); echter de volledige lijst van alle ingrepen en de langdurige gedragstaken is dusdanig lang dat de effecten ervan op het dier niet met zekerheid zijn te voorspellen en dat dus niet valt uit te sluiten dat er onder omstandigheden toch ook ernstig cumulatief ongerief kan optreden.