



Form

Project proposal

- This form should be used to write the project proposal for animal procedures.
- The appendix 'description animal procedures' is an appendix to this form. For each type of animal procedure, a separate appendix 'description animal procedures' should be enclosed.
- For more information on the project proposal, see the Guidelines to the project licence application form for animal procedures on our website (www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0800-789 0789).

1 General information

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

5.1.2.e

- 1.2 Provide the name of the licenced establishment.

5.1.2.e

- 1.3 Provide the title of the project.

Preclinical testing of CD117xCD3 BiTE for safe bone marrow conditioning prior to stem cell transplantation

2 Categories

- 2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project.

- ☐ Basic research
- ☒ Translational or applied research
- ☐ Regulatory use or routine production
- ☐ Research into environmental protection in the interest of human or animal
- ☐ Research aimed at preserving the species subjected to procedures
- ☐ Higher education or training
- ☐ Forensic enquiries
- ☐ Maintenance of colonies of genetically altered animals not used in other animal procedures

3 General description of the project

3.1 Background

Describe the project (motivation, background and context) with respect to the categories selected in 2.1.

Hematopoietic stem cell transplantation is a life-saving procedure for benign and malignant hematopoietic diseases. More than 1.5 million hematopoietic stem cell transplantations (HSCT) are performed world-wide every year, and this number is still increasing ¹. Before hematopoietic stem cell transplantation can be

performed, the patient's bone marrow must undergo bone marrow conditioning. Standard bone marrow conditioning regimen may involve chemotherapy and total body irradiation. This bone marrow treatment eliminates diseased stem cells and creates space in the patient's bone marrow for new donor hematopoietic stem cells to engraft.

Despite its success in many cases, HSCT is still hindered by two major hurdles: **1.** Bone marrow conditioning-related toxicity, caused by the chemotherapy/irradiation, resulting in significant morbidity and risk of mortality and **2.** Relapse of disease caused by surviving malignant cells after pre-transplant chemotherapy. The first hurdle also limits the application of HSCT in the majority of patients that are not fit enough to undergo the procedure, and for patients with hematopoietic diseases, such as immunodeficiency syndromes, sickle cell disease and bone marrow-failure syndromes. In addition, due to the treatment young children are at high risk for heart failure, cancer and infertility at adult age ²⁻⁶. Thus, improved bone marrow-conditioning protocols to prevent these toxicities, prior to HSCT, would be of great benefit.

CD117 (also known as cKIT), is a receptor tyrosine kinase abundantly expressed on hematopoietic stem cell progenitors, and leukaemia-initiating cells. CD117 is critical for cellular survival and proliferation. CD117 can serve as a target for diseased stem cell and leukaemia-initiating cell elimination and bone marrow conditioning. Antibodies that bind to CD117 and target stem cells are currently in phase-I/II clinical trials for the treatment of Severe Combined Immunodeficiency (SCID), acute myeloid leukaemia and Myelodysplastic syndrome patients. CD117 is also expressed in other tissues including, melanocytes, mast cells and kidney and could suggest toxicity of CD117 targeting ⁷. Importantly, anti-CD117 antibody treatment in clinical trials did not result in obvious toxicities in more than 130 patients and healthy individuals (clinical trials: NCT02963064, NCT04429191, NCT05903274). The shortcoming of anti-CD117 antibody is the relatively low stem cell depletion capacity, high stability and therefore continuing activity of the reagent for at least 21 days ⁸. This prevents timely hematopoietic stem cell transplantation with the risk of poor donor cell chimerism, severe infections and relapse in case of leukaemia.

Bi-specific T cell engagers (BiTE) are novel successful reagents to eliminate diseased target cells in patients ^{9, 10}. In collaboration with a biopharmaceutical company that develops novel antibody-based therapeutics, a novel CD117xCD3 BiTE (PR004384, patent application PCT/CN2023/140352, WO 2024/131861 A1) that binds to CD117 expressed on the CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells (HSC) and CD3 on T cells has been generated. In this way, the reagent will recruit T cells to stem cells in the bone marrow, which will rapidly kill the target cells and empty the bone marrow niches. Compounds with different binding characteristics were developed and tested in mice. The CD117xCD3 BiTE compound selected for further testing has the advantage of a strongly improved target cell depletion in humanized mouse models. In mice, a >95% hematopoietic stem cell depletion in the bone marrow of CD117xCD3 BiTE -treated mice was observed already at one day post-treatment and a full depletion of leukaemia-initiating cells in humanized leukaemia mouse models. In addition, the reagent has a strongly reduced *in vivo* stability of approximately 2 hours, that allows proven precision therapy and rapid stem cell transplantation in humanized mice. While allowing for precision treatment, the short half-life of the compound does require a treatment schedule consisting of five repeated injections over a three-day period (explained in more detail in appendix 1). This proposed treatment schedule is based on studies in mice and may be further fine-tuned in the non-human primate model and, once its efficacy has been proven, in clinical studies. Notably, no obvious treatment-related toxicities were observed in pre-clinical humanized mice. Although CD117xCD3 BiTE is a very promising reagent, it still needs to meet certain milestones before initiating phase-I clinical trials. In humanized mice only the reconstituted human compartment is targeted by the therapy. However, as stated above CD117 is also expressed on other tissues. Because CD117xCD3 BiTE binds to CD117 expressed on mast cells, this may cause mast cell activation and consequently anaphylaxis. While no adverse events were seen in previous studies with CD117, the CD117xCD3 BiTE mediated HSC depletion is caused by activation of T-cells. Excessive T-cell activation may cause a Cytokine Release Syndrome (CRS). CRS can manifest as mild, with flu-like symptoms, including fever, nausea, and chills, or may be life-threatening and severe with shock and respiratory compromise, leading to multi-system organ failure and even death. Hence additional evaluation is needed in an animal model that is highly homologous to humans in its immune-system and hematopoietic stem cells.

Non-human primates have a unique close homology to humans in most components of their immune system ¹¹. In addition, HSC in the bone marrow were shown to be phenotypically very comparable to humans, with similar expression of differentiation markers and subsets being present ¹²⁻¹⁴. The gene encoding CD117 in non-human primate rhesus macaques is highly similar to human CD117. We have established that CD117xCD3 BiTE binds to HSC isolated from bone-marrow of macaques, via *in vitro* tests. In addition, CD117 expression levels on CD34+ stem cells are similar between human and non-human primates ¹³⁻¹⁵. Furthermore, the anti-CD3 part of CD117xCD3 BiTE recognizes an epitope that is conserved between humans and rhesus macaques. Evaluation in non-human primates thus represents the most optimal animal model for detecting the potential adverse events described above, to evaluate the efficiency for depletion of HSC and subsequent allogeneic HSCT. In addition, the hematopoietic stem cell depletion capacity of CD117xCD3 BiTE, hematopoietic stem cell transplantation efficiencies and recovery and quality of T cell subsets post-treatment needs to be validated. Results obtained in non-human primates have a high translational value for humans and form an essential step toward further clinical evaluation.

References

1. Niederwieser D., et al. One and a half million hematopoietic stem cell transplants: continuous and differential improvement in worldwide access with the use of non-identical family donors. *Haematologica*. **107**, 1045-1053 (2022).
2. Al-Mahayri Z. N., AlAhmad M. M., Ali B. R. Long-Term Effects of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Chemotherapy: Can Recent Findings Inform Old Strategies? *Front Oncol*. **11**, 710163 (2021).
3. Close A., et al. Fertility preservation in pediatric leukemia and lymphoma: A report from the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer*. **70**, e30407 (2023).
4. Karalexi M. A., et al. Fertility status in childhood cancer survivors of hematological malignancies: a systematic review. *Hormones (Athens)*. **22**, 211-221 (2023).
5. Narayan H. K., Getz K. D., Leger K. J. Minimizing cardiac toxicity in children with acute myeloid leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. **2021**, 368-375 (2021).
6. Zhang J., Lei W., Chen X., Wang S., Qian W. Oxidative stress response induced by chemotherapy in leukemia treatment. *Mol Clin Oncol*. **8**, 391-399 (2018).
7. Russkamp N. F., Myburgh R., Kiefer J. D., Neri D., Manz M. G. Anti-CD117 immunotherapy to eliminate hematopoietic and leukemia stem cells. *Exp Hematol*. **95**, 31-45 (2021).
8. Kwon H. S., et al. Anti-human CD117 antibody-mediated bone marrow niche clearance in nonhuman primates and humanized NSG mice. *Blood*. **133**, 2104-2108 (2019).
9. Blanco B., Dominguez-Alonso C., Alvarez-Vallina L. Bispecific Immunomodulatory Antibodies for Cancer Immunotherapy. *Clin Cancer Res*. **27**, 5457-5464 (2021).
10. van de Donk N., Zweegman S. T-cell-engaging bispecific antibodies in cancer. *Lancet*. **402**, 142-158 (2023).
11. Mestas J., Hughes C. C. Of mice and not men: differences between mouse and human immunology. *J Immunol*. **172**, 2731-2738 (2004).
12. Dal Collo G., et al. Immunotherapy for rapid bone marrow conditioning and leukemia depletion that allows efficient hematopoietic stem cell transplantation. *J Immunother Cancer*. **13**, (2025).
13. Radtke S., et al. A distinct hematopoietic stem cell population for rapid multilineage engraftment in nonhuman primates. *Sci Transl Med*. **9**, (2017).
14. Radtke S., Kiem H. P. Identification of Nonhuman Primate Hematopoietic Stem and Progenitor Cells. *Methods Mol Biol*. **2567**, 87-98 (2023).
15. Uchida N., et al. Fertility-preserving myeloablative conditioning using single-dose CD117 antibody-drug conjugate in a rhesus gene therapy model. *Nat Commun*. **14**, 6291 (2023).
16. Curtis D. J., et al. Graft-versus-Host Disease Prophylaxis with Cyclophosphamide and Cyclosporin. *N Engl J Med*. **393**, 243-254 (2025).

3.2 Purpose

3.2.1 Describe the project's immediate and ultimate goals. Describe to which extent achieving the

project's immediate goal will contribute to achieving the ultimate goal.

- If applicable, describe all subobjectives

The ultimate goal is to use CD117xCD3 BiTE for efficient depletion of hematopoietic stem and progenitor cells from the bone-marrow, with less side effects than the current bone-marrow conditioning protocols, to enable hematopoietic stem cell transplantation with healthy donor stem cells in humans.

Immediate goals:

Although not observed in humanized mouse models, potential adverse effects will be assessed e.g.

- a. T cell mediated immune therapies may cause cytokine release syndrome (CRS) and/or mast cell activation syndrome (MCAS). We will investigate whether PTM- CD117xCD3 BiTE causes symptoms of CRS and MCAS such as fever, dyspnoea, cardiovascular adverse effects, and diarrhoea in the rhesus macaques.
- b. Potential adverse events caused by depletion of CD117-positive cell populations will be investigated by blood sampling, clinical monitoring and histology.

Bone marrow and blood samples will be analysed for hematopoietic stem cell depletion, frequency and activity of the various T cell subsets and cytokine inductions.

Establishing the efficiency of hematopoietic stem cell transplantation post- CD117xCD3 BiTE treatment.

Together, these experiments will give invaluable insights in the capacity of CD117xCD3 BiTE for safe bone marrow conditioning and rapid hematopoietic stem cell transplantation.

3.2.2 Provide a justification for the project's feasibility.

Protocols for bone marrow transplantation were already developed in the sixties by professor DW van Bekkum, JJ van rood and JMJJ Vossen at the Radiobiologisch Instituut TNO in Rijswijk, using macaque animal models. The current institute in which these experiments are performed originated from the Radiobiologisch Instituut. This project is achievable based on our extensive experience with experiments in rhesus macaques to investigate the bone marrow and hematopoiesis and safety testing of new compounds (described in 5.1.2.c and 5.1.2.c 5). The infrastructure for performing experiments with rhesus macaques is fully operational. This includes state of the art animal facility, experience with tissue analysis and previous hematopoietic stem cell transplantation. All necessary equipment and techniques for this project are routinely used by skilled technical personnel.

The project is scientifically feasible as we have extensive data in humanized mice with CD117xCD3 BiTE. Finally, the CD117xCD3 BiTE reagent is confirmed to be cross-linked with rhesus macaque antigen on hematopoietic stem cells and T cells, ensuring that they are functional in these animals. In this project, we collaborate with investigators and clinicians from 5.1.2.c and 5.1.2.c 5.1.2.c that coordinate numerous clinical trials, and this will allow us to go from preclinical animal model research and validation in rhesus macaque to testing CD117xCD3 BiTE in clinical practice.

3.2.3 Are for conducting this project, other laws and regulations applicable that may affect the welfare of the animals and/or the feasibility of the project?

☒ No

☐ Yes > Describe which laws and regulations apply en describe the effects on the welfare of the animals and the feasibility of the project.

3.3 Relevance

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

Social relevance: Bone marrow diseases, such as leukemia, are one of the main causes of morbidity and mortality in the World. People who suffer from these diseases do not only have a significantly lower quality

of life due to the direct effects of their illness, but they also often cannot go to school or have a stable job and are unable to properly participate in society. Routine care for people with leukemia, is by itself expensive, but a far greater economic burden is the hospital care required to treat serious complications, which include heart failure, higher risk on cancer, and infertility. Major costs to society include lost economic productivity, as people take time off because of illness and retire earlier, and the expense of social care. Notably, the expected pre-clinical data on safety of CD117xCD3 BiTE treatment in rhesus macaques will ultimately allow the initiation of phase-I clinical trials in which the reagent will be tested as a novel bone marrow-conditioning regimen in adult and juvenile patients with haematological disorders and malignancies at 5.1.2.c and

other (inter-)national institutes.

The **scientific relevance** of this project is depleting the bone marrow of diseased hematopoietic stem cells to enable stem cell transplantation with healthy (donor) stem cells in a non-toxic fashion in both benign and malignant hematopoietic disorders. Due to severe toxicity of current bone marrow conditioning protocols subsets of patients cannot be transplanted or experience adverse effects at the short and long term. We will establish successful protocols for hematopoietic stem cell transplantation.

3.3.2 Who are the project's stakeholders? Describe their specific interests.

1. Primary stakeholders are patients with benign or malignant haematological disorders. Low-risk, antibody-mediated conditioning of the bone marrow has the potential to greatly benefit patients with inherited severe hematopoietic disorders that affect blood cell lineages and functions, as well as those with various types of hematopoietic malignancies. This approach minimizes the risk of life-threatening infections and organ damage, which often disqualifies fragile patients from receiving HSCT. We anticipate achieving a higher percentage of donor hematopoietic stem cell chimerism following transplantation, leading to more effective and stable long-term hematopoiesis and prolonged clinical benefits. Importantly, our method will facilitate the rapid advancement of future gene-corrected autologous stem cell therapies into clinical practice. However, this is not specifically tested here. Successful treatment will significantly enhance the quality of life for patients, enabling them to attend school, engage fully with family and friends, pursue employment, and participate in society. After hematopoietic stem cell transplantation, patients will not face an increased risk of cancer or loss of fertility, allowing them the opportunity to have children in the future. Possible side effects of the transplant itself are not addressed in this study, but may still have an impact on the quality of life. We believe that our proposed investigations have the potential to fundamentally change the current treatment protocols.

2. Primary and secondary stakeholders are researchers and clinicians studying T cell-mediated therapies and HSCT in the context of benign and malignant hematopoietic disorders. The knowledge gained in this project will help to improve current bispecific T cell engager (BiTE) treatments and T cell therapies.

3. The animals are primary stakeholders. Although they will not benefit from the results of this protocol, they will be used for the experiments and be submitted to procedures and discomfort, hence the integrity of the animals is compromised. At the end of the study the animals are killed.

4. The society is also a stakeholder. A better treatment of the patient will reduce costs for hospitalization and make the patient more productive.

5. The pharmaceutical company involved in the development of CD117xCD3 BiTE is stakeholder. They will have an economic interest in marketing this product.

3.4 Strategy

3.4.1 Provide an overview of the overall design of the project (strategy). If applicable, describe the different phases in the project, the coherence, the milestones, selection points and decision criteria.

The specific aim of the project is: To test the (1) *in vivo* stability, (2) side-effects of CD117xCD3 BiTE in rhesus macaques, (3) functionality of CD117xCD3 BiTE. The animal procedures to achieve these aims are described in appendix 1: Validation of the CD117xCD3 BiTE compound for *in vivo* half-life,

safety, stem cell depletion capacity, and efficacy of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. The animal procedure to obtain donor bone marrow cells are described in appendix 2.

Appendix 1.

1) To investigate the *in vivo* stability (pharmacokinetics) of CD117xCD3 BiTE, animals will be intravenously injected with CD117xCD3 BiTE and blood samples will be taken to determine the concentration of CD117xCD3 BiTE in the serum. Establishing the PK-value of CD117xCD3 BiTE in rhesus macaques is **milestone 1** in this project.

2) To investigate possible side-effects of CD117xCD3 BiTE post-treatment, the rhesus macaques will be tightly monitored for body temperature and heart rhythm, which are signs for anaphylaxis. Body temperature will be monitored continuously by implanting a temperature transponder in the abdominal cavity. Heart rhythm and blood flow are monitored by doppler flow measurement. A clinical scoring list will be used to record whether the CD117xCD3 BiTE reagent causes symptoms of CRS such as fever, dyspnoea, cardiovascular adverse effects, and diarrhoea in the clinically relevant rhesus macaque animal research model. Blood samples will be taken to monitor changes in clinical chemistry and hematology values, cytokine production and T cell activation as a possible sign of (CRS). In the unlikely situation that CD117xCD3 BiTE is causing anaphylaxis or CRS, CD117xCD3 BiTE treatment will be stopped if this happens during the planned three days of treatment. Appropriate treatment will be given, or the animal will be killed to avoid unnecessary suffering. To avoid this as much as possible from happening the CD117xCD3 BiTE treatment will start in one animal. If there are no signs of anaphylaxis then the following animals will also be treated. In case of anaphylaxis the dose will be adjusted and tested in a second animal. Establishing potential side-effects of the CD117xCD3 BiTE treatment is **milestone 2** in this project.

3) The functionality of CD117xCD3 BiTE for bone marrow conditioning will be established by bone marrow puncture (maximum four times, one or two performed in the first days after CD117xCD3 BiTE injection and two during the last four weeks of the study) and FACS analysis to determine the presence of different stem cells as well as other immune cells. Bone marrow and blood samples will be analysed for hematopoietic stem cell depletion, changes in blood cell populations, frequency and activity of the various T cell subsets and cytokine inductions. Establishing HSC depletion after CD117xCD3 BiTE treatment in rhesus macaque is **milestone 3** in this project. Reaching greater than 50% HSC depletion, as measured via a bone marrow puncture performed in the first days after treatment, forms a go/no go criterium for further treatment, i.e. the ATG, HSCT and cyclophosphamide injection. In mice this level of depletion of CD117 positive stem cells was shown to be sufficient to achieve chimerism upon HSCT⁸. If the depletion is less than 50% the animal will not be treated further and will be followed for two more months until there is no longer any change observed in the blood. A new treatment with increased dose of CD117xCD3 BiTE is not considered, because the depletion efficacy is largely determined by its binding affinity and this is already optimal for the CD117xCD3 BiTE compound tested here. Then they will be returned to the experimental stock. With >50% HSC depletion this protocol will be suitable for treating patients with hematopoietic diseases.

The functionality of CD117xCD3 BiTE for HSCT will be established by intravenous infusion of purified CD34 stem cells from an allogeneic donor. The use of allogeneic stem cells is needed to be able to discriminate between cells derived from the donor stem cells versus the autologous cells from the recipient. This discrimination will be made based on differences in MHC composition. First the autologous T cells will be depleted by treating animals with anti-thymocyte globulin (ATG). This is needed to prevent rejection of the allogeneic stem cells. A greater than 95% depletion of T cells in peripheral blood has to be obtained to proceed with the treatment protocol. This high level of depletion is required to sufficiently reduce the risk of donor stem-cell rejection. Then, after the HSCT animals will be treated two times with cyclophosphamide to suppress any reaction from allogeneic T cells that might still be present at low level in the stem cell transplant. These protocols follow established clinical procedures for heterologous stem cell transplantation in humans¹⁶. Stem cell reconstitution is monitored by bone marrow puncture and stem cell FACS analysis (maximum four time points). Blood is taken to monitor changes in blood cell populations, frequency and activity of various T cell subsets and cytokine inductions. A clinical scoring list is used to monitor possible adverse events associated with CRS, as described above, as well as graft versus host disease induced by

the transplant. At the end of the study animals are killed and organs are collected for histological analysis. The achievement of high (>20%) donor cell chimerism in the bone marrow of treated rhesus macaques is expected to be sufficient for treatment of severe haematological disorders and is set as **milestone 4**.

Together, our 4 milestones will allow the development and initiation of clinical studies in different patient groups.

Bone marrow containing hematopoietic stem cells for the allogeneic HSCT will be collected from healthy untreated rhesus macaque donors under appendix 2 (Donor bone marrow collection). Animals will be selected based on differences in MHC composition as compared to the CD117xCD3 BiTE treated animals.

3.4.2 Provide a justification for the strategy described above.

Unfortunately, *in vitro* experiments of antibody reagents do not allow for the investigation of the complex interactions and potential side-effects of our CD117xCD3 BiTE reagent in a living organism. Therefore, pre-clinical testing using only *in vitro* laboratory models is impossible. However, humanized mice mimic the complexity of CD117xCD3 BiTE-mediated hematopoietic stem cell targeting and stem cell transplantation in human and therefore allow pre-clinically relevant research. These pre-clinical experiments in mice have been performed by our collaborator, which resulted in very promising results, including an almost complete depletion of hematopoietic stem and progenitor cells and leukemia-initiating stem cells in the bone marrow, resulting in an up to 85% donor cell chimerism after hematopoietic stem cell transplantation in benign and malignant setting. The experimental setup validated in pre-clinical mouse models were applied to setup the studies in non-human primates described here. project.

As our reagent doesn't cross-react with mouse CD117, the targeting of CD117-expressing cells in other tissues than the humanized bone marrow is not captured in humanized mice. Therefore, potential CD117xCD3 BiTE-induced side effects due to depletion of CD117-expressing cells other than hematopoietic stem cells cannot be investigated in mouse models. Non-human primates are the only other well-characterized species in which CD117 cross-reacts with CD117xCD3 BiTE. Rhesus macaques express CD117 at levels comparable to humans, in the same tissues and on the same cell types. We have shown that CD117xCD3 BiTE reagent cross-reacts with rhesus macaque CD117 and CD3 expressed on T cells. Subsequently, validation studies in non-human primates are needed to ensure safety of CD117xCD3 BiTE in humans. Moreover, rhesus monkeys, like humans, exhibit genetic diversity, which makes this model more relevant and better reflecting human situation than mouse models. Therefore, our expected results are highly relevant for the translation of the bone marrow conditioning and hematopoietic stem cell transplantation results to the human situation.

In case CD117xCD3 BiTE reagent fulfils our quality criteria (reaching milestones 1-4), we will pursue further clinical studies and clinical development. The next step would be to apply the CD117xCD3 BiTE to human phase-I safety studies with an external expert clinical team. The team will initiate these studies at (inter)national hospitals and we will seek biotechnology and/or pharmaceutical industrial partners to accelerate such trials, large scale application to patients and further clinical testing.

The strategy described above allows us to study different aspects of the CD117xCD3 BiTE in the same animals, thus limiting the number of animals needed. The procedures include; studying the pharmacokinetics via frequent bleeding immediately after injection, monitoring possible adverse events including CRS, studying efficacy for stem cell depletion and studying the suitability as conditioning regimen for heterologous HSCT.

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

Serial number	Type of animal procedure
App1	Validation of the CD117xCD3 BiTE compound for <i>in vivo</i> half-life, safety, stem cell depletion capacity, and efficacy of allogeneic HSCT
App2	Donor bone marrow collection
3	

4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Appendix

Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information on the project proposal, see the Guidelines to the project licence application form for animal procedures on our website (www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

1 General information

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

5.1.2.c

- 1.2 Provide the name of the licenced establishment.

5.1.2.e

- 1.3 List the serial number and type of animal procedure

Use the numbers provided at 3.4.3 of the project proposal.

Serial number	Type of animal procedure
1	Validation of CD117xCD3 BiTE for <i>in vivo</i> half-life, safety, stem cell depletion capacity, and efficacy of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

CD117xCD3 BiTE is a bispecific antibody, consisting of anti-CD117 and anti-CD3, that was recently developed to achieve effective bone marrow conditioning in patients that need a hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) to treat benign or malignant hematopoietic diseases. The aim of the animal procedures described in this appendix is to evaluate **A.** Serum half-life, **B.** Bone marrow conditioning capacity (hematopoietic stem cell depletion), **C.** Possible adverse effects of the treatment, **D.** Efficacy of subsequent allogeneic HSCT of CD117xCD3 BiTE.

The general study setup is as follows: Four weeks before the start of the study a temperature sensor will be implanted in the abdominal cavity. This will allow for a continuous monitoring of the body temperature. A bone marrow puncture is performed to obtain a reference value for the efficacy of the later CD117xCD3 BiTE treatment. After a one-month recovery period, animals are treated with CD117xCD3 BiTE by intravenous injections given on three subsequent days. This injection schedule is needed because of the short half-life of the compound. The minimum number of injections is three (one injection per day). The maximum number of injections given will be five, involving two injections on day 1 (with about 8 hours in between), two injections on day 2 and one final injection on day 3 (see phased decision process). On the first day of injection, blood is drawn at regular time intervals after the first injection (for instance 30 minutes, 1, 2, 4 and 8 hours, maximum five time points on first day) and serum is analysed to measure serum half-life of the compound. One to two

days after the last CD117xCD3 BiTE injection, a bone marrow puncture is performed to measure the efficacy of stem cell depletion. Due to the short half-life of CD117xCD3 BiTE the maximum level of stem cell depletion is expected to occur in this time frame. If the depletion is less than 50% the animal will not be treated further and will be followed for two more months until there is no longer any change observed in the blood. Then they will be returned to the experimental stock. Upon successful stem cell depletion (>50%) animals will be prepared for receiving the allogeneic transplant. To this end the autologous T cells need to be depleted to prevent graft rejection. Animals will receive maximum three intravenous injections of anti-thymocyte globulin (ATG) (three consecutive days, one injection per day), followed by HSCT the next day. Fewer ATG injections may suffice. This will be based on the number of T cells remaining in the blood, as measured by fluorescence activated cell sorting (FACS) analysis. A greater than 95% depletion of T cells in peripheral blood has to be obtained to proceed with the treatment protocol. This high level of depletion is required to sufficiently reduce the risk of donor stem-cell rejection. HSCT is performed by intravenous injection of CD34 enriched allogeneic stem cells. Then around day 3 and 4 after HSCT animals are treated with cyclophosphamide, given by intravenous injection, to suppress any reaction from allogeneic T cells that might still be present at low level in the stem cell transplant¹. Engraftment of the allogeneic HSC is monitored by taking a bone marrow puncture between four and twelve weeks after HSCT (maximum two times). Blood is taken almost daily during the first week after CD117xCD3 BiTE treatment and then three times a week in week 2 and 3 and subsequently once a week until the end of the study (maximum duration 12 weeks). These frequent bleedings are needed to a) monitor changes in platelet, granulocyte, lymphocyte, monocyte and other blood cells via haematology and FACS analysis, b) monitor changes in cytokine secretion and organ function (clinical chemistry) that could indicate cytokine release syndrome (CRS). If due to the CD117xCD3 BiTE mediated bone marrow depletion the number of platelets decreases to below 20,000 per ul the animal will receive a blood transfusion with platelet enriched plasma. Should the number of red blood cells decrease to hematocrit values of below 20% then a blood transfusion with packed red blood cells will be given. Donor platelets and red blood cells will be obtained from the same donor animals that were used for the HSCT. Should platelet, red blood cell and white blood cell levels not recover by day 28 after HSCT then the animals will be euthanized. Due to the transient depletion of the T cells animals may develop symptoms indicative of a bacterial infection, such as persistent diarrhoea in combination with fever (lasting three days). In that case they will be given antibiotics for gut decontamination (orally by gavage) and systemic antibiotics (by intramuscular injection). Antibiotic treatment will be given for at least seven days and continued as long as symptoms persist². Antibiotic treatment will be combined as much as possible with planned other handlings. Animals are killed at the end of the study and organs are collected for histopathological examination to detect possible adverse events of the treatment. A clinical scoring list is used to measure any signs of CRS and graft versus host disease (GvHD) and will also be used as clinical end point. GvHD may occur when the T cells that arise from the allogeneic stem cells start reacting against the host. This is not expected to occur within the proposed study duration of maximum 12 weeks¹.

A typical study schedule will thus be as follows but may differ in details.

Date			BM depletion																							
Study Week	-4	-2	1								2								3							
Start day		-14	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21		
Start point BM depletion			-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17		
Bone marrow collection																										
Phosphor and CD117/CD3-BiTE			1.2x	1.2x	1x																					
HSCT																										
ATG (25 mg/kg)																										
cyclophosphamide (50 mg/kg)																										
Clinical scoring		1x pt	3x pt																							
Temperature transponder implantation																										
Decontamination																										
Blood sampling			Week 1, 2, 3, 4																							
Euthanasia (number of animals per day)																										
Recovery (number of animals per day)																										

The primary outcome parameters are:

1. Effective depletion of bone marrow stem cells (>50%) by CD117xCD3 BiTE treatment.
2. Absent or very limited increase in pro-inflammatory cytokines in the blood after CD117xCD3 BiTE treatment.
3. Absent or very limited increase in clinical chemistry values indicative of organ damage or vascular leakage (in access above values induced by the repeated sedation itself).
4. Clinical symptoms
5. Successful HSCT (>20% donor cell chimerism)

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

A. Serum half-life (pharmacokinetics-value, PK)

To determine the PK-value of CD117xCD3 BiTE, the rhesus macaque will be sedated, intravenously injected with CD117xCD3 BiTE with an *in vivo* concentration of 1mg/kg. Blood samples will be taken at regular intervals, with a maximum number of five times on the day of the injection and then according to the bleeding schedule followed for measuring possible adverse events. This high frequency is needed because of the expected short half-life of the compound (approximately 2 hours, as determined in mice). In general, blood volumes to be taken will not exceed a maximum of 1% of the body weight per 4 weeks (and 0.7% max per bleeding). Injections and blood collection will be performed under sedation. In case a daily blood collection is required then the animals will receive a calorie-rich diet (e.g. "brokkenballen") to supplement food intake, which is otherwise reduced because of fasting before sedation. During oral antibiotics treatment, animals will receive nutrients via gavage.

B. Bone marrow conditioning analysis

To determine the efficiency of CD117xCD3 BiTE for hematopoietic stem cell depletion, rhesus macaques will be treated with CD117xCD3 BiTE (1 mg/kg) at scheduled timepoints. A pre-treatment bone marrow sample will be compared with a post-treatment bone marrow sample to confirm stem cell depletion. Notably, this treatment protocol is established in humanized pre-clinical mouse models. Bone marrow is collected under sedation from the humerus (caput humeri, alternating between left and right side between subsequent biopsies), using a disposable bone marrow biopsy/aspiration needle. To prevent pain the animals are also given an opioid analgetic. In the unlikely event the hematopoietic stem cell depletion is below 50% the animal will not be treated further and will be followed for two more months until there is no longer any change observed in the blood.

C. Adverse effects of CD117xCD3 BiTE treatment

To determine the adverse effects of CD117xCD3 BiTE *in vivo*, the animals will be treated with CD117xCD3 BiTE (1 mg/kg) at scheduled timepoints. The animals will be monitored for general behavior as well as specific signs for anaphylaxis (CRS) and GvHD, including fever, swelling of the skin or abdomen, skin rash, icterus, shortness of breath, increase in heart rate, anorexia and weight loss, apathy, and strangury or haematuria. A scoring list is used, including, alertness, posture, dehydration, nausea, diarrhoea, conjunctivitis, breathing pattern, temperature increase, heart rate (adapted from Brining et al, ³). A similar scoring list was previously used for monitoring adverse events associated with CRS (5.1.2.e and 5.1.2.e). Body temperature will be monitored continuously by implanting a temperature sensor in the abdominal cavity. Heart rhythm and blood flow are monitored by doppler flow measurement, which is performed during the first week after start of CD117xCD3 BiTE treatment, when animals are already being sedated for blood sampling. Blood samples will be taken after CD117xCD3 BiTE treatment with regular intervals to measure increases in inflammatory cytokines, indicative of CRS. In the unlikely event that the treatment is causing a severe CRS, the CD117xCD3 BiTE treatment will be stopped. If this happens during the planned three days of treatment, the animal will be treated with antihistamine and corticosteroids and will be removed from the study. To avoid this as much as possible from happening the CD117xCD3 BiTE treatment will start in one animal. If there are no signs of anaphylaxis after the first day of treatment, then the study will proceed as described above under phased decision. In case of anaphylaxis the dose will be adjusted and tested in a second animal. Maximum study duration is twelve weeks. Development of severe GvHD symptoms is unusual in this time frame. GvHD will also be prevented by the cyclophosphamide treatment.

D) Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

After successful bone marrow conditioning, rhesus macaques will be injected with antibodies against T cells (ATG) and transplanted with allogeneic donor hematopoietic stem cells with intravenous injections. Bone marrow will be collected by bone marrow puncture at different timepoints post-transplantation to establish the donor hematopoietic stem cell chimerism. In addition, blood samples will be taken at different timepoints to determine donor cell haematopoiesis and establish various functional and quality parameters of T cells.

At the end of the study, animals will either return to the experimental stock or are humanely killed in case full pathology assessment is required.

Table. Maximum number of repeats per procedure.

procedure	Maximum number	Duration
Sedation	28	15-60 min
Operation for placing temperature sensor	1	15-30 min
Intravenous injection	15	15-30 min
Intramuscular injection	15	15 min
Blood collection	26	30 min
Bone marrow collection	4	30-60 min
Killing	1	15 min

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

The number of animals per test group will be determined on the basis of experience gained in *in vivo* experiments in mice. Previous studies in macaques in which bone marrow conditioning protocols were tested in combination with HSCT have been performed using four animals ^{4,5}. The exact number of animals needed will be determined by statistical calculations based on the mouse data. Using effective depletion of HSC as a primary outcome measure a one sided paired t-test will be used comparing pre- versus post treatment HSC levels in bone marrow. This will be submitted to the AWB for approval. However, because of the risk of CRS and the possible required CD117xCD3 BiTE dose adjustment implies that possibly more animals are needed. We request a maximum number of ten animals for these studies.

B. The animals

Specify the species, origin, life stages, estimated numbers, gender, genetic alterations and, if important for achieving the immediate goal, the strain.

Serial number	Species	Origin	Life stages	Number	Gender	Genetically altered	Strain
	Rhesus macaque (Macaca mulatta)	5.12.e	Adult	10	Male and/or female	no	Not applicable

Provide justifications for these choices

Species	Rhesus macaque As our reagent doesn't cross-react with mouse CD117, the targeting of CD117-expressing cells in other tissues than the humanized bone marrow is not captured in humanized mice. In addition, pre-clinical mouse models do not have the same immune cell distribution compared to human. Therefore, potential CD117xCD3 BiTE -induced adverse effects due to depletion of CD117-expressing cells other than hematopoietic stem cells or cytokine release syndrome cannot be fully investigated in mouse models. Non-human primates such as rhesus macaques are the only other well-characterized species in which CD117 cross-reacts with CD117xCD3 BiTE. Rhesus macaques express CD117 at levels comparable to human, in the same tissues and on the same cell types. In addition, the human CD117 protein is well-
---------	---

	conserved in rhesus macaques. We have shown that CD117xCD3 BiTE reagent cross-reacts with rhesus macaque CD117 and CD3 expressed on T cells. For that reason, validation studies in non-human primates are needed to ensure safety of CD117xCD3 BiTE in humans. Moreover, rhesus macaques, like humans, exhibit genetic diversity, which makes this model more relevant, and better reflects the human situation. Therefore, our expected results are highly relevant for the translation of the bone marrow conditioning and hematopoietic stem cell transplantation results to the human situation.
Origin	All animals are housed and bred at the 5.1.2.e
Life stages	Adult.
Number	ten
Gender	It is not expected that there are gender-dependent effects, therefore males and/or females can be included
Genetic alterations	no
Strain	no

C. Accommodation and care

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

☐ Yes

☒ No > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices

Animals are temporarily single housed if they show signs of an infection or a decrease in general wellbeing that would necessitate a separation from their cage-mate. However, they can keep eye and sound contact with their cage mate and are reintroduced to each other as soon as they start to recover.

D. Pain and compromised animal welfare

Will the animals experience pain during or after the procedures?

☐ No

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

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

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

After placing the telemetric temperature sensor in the abdomen, the animals will receive analgesics for as long as necessary, typically 3 days. In previous studies we have observed that animals can experience some fever during the first days after insertion of the temperature sensor but have recovered very well within 1 week after the operation. For the pre and post treatment bone marrow biopsy, adequate analgesia will be provided. The same procedure will be used for removal of the temperature sensor, in case animals are taken out of study and will return to the experimental stock.

All procedures will be performed under sedation to minimize discomfort of the handlings.

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

- All procedures will be performed under sedation. Recovery from sedation may cause nausea, lack of appetite, and dizziness.
- The surgery needed for insertion and removal of telemetric temperature sensor will cause pain and some local inflammation.
- Bone marrow sampling may cause pain and local irritation.
- Injection of CD117xCD3 BiTE has a chance of causing adverse effects including CRS or anaphylaxis due to vast mast cell activation. Symptoms of anaphylaxis include dyspnoea, fever, and cardiovascular adverse effects such as heart rhythm abnormalities. CRS can manifest as mild, with flu-like symptoms, including fever, nausea, and chills, or may be life-threatening and severe with shock and respiratory

compromise, leading to multi-system organ failure and even death.

- GvHD may develop after allogeneic HSCT. Symptoms of GvHD include fever, (maculopapular) rash, jaundice, changes in stool and urine and reduced food intake.
- Cyclophosphamide treatment may lead to loss of appetite, vomiting, changes in stool and bleeding due to reduced platelet counts.
- Animals will be single housed in case of clear signs of infection or when a decrease in general wellbeing makes separation necessary.

Explain why these effects may emerge.

- Nausea, lack of appetite, and dizziness is caused by the sedation agents used.
- For placing the temperature sensor, a small incision is made in the skin and the abdomen, and the sensor is stitched to the abdominal wall. The wound is then closed with stitches. The same procedure is used for removal of the temperature sensor. This is only done in case an animal is not treated further after CD117xCD3 BiTE injection and returned to the experimental stock.
- When collecting bone marrow, the skin and bone will be punctured by a bore needle.
- Anaphylaxis: CD117xCD3 BiTE binds to CD117 on mast cells and may activate these cells. When this activation occurs massively, this may cause anaphylaxis.
- CRS: In case of massive immune cell activation, these cells may release high number of cytokines, which will activate other immune cells. When this activation is too aggressive, this may result in organ damage or even death.
- GvHD: engraftment of allogeneic stem-cells will result in production of different blood cells, including T cells. These T cells may start reacting to proteins from the recipient, causing inflammation and tissue destruction.
- Cyclophosphamide has a general immune-suppressive effect, but may also affect other tissues with a high cell turn-over, such as the gut.
- Single housing is needed during to prevent severe health problems and to allow better treatment.

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

- Surgery will be done under anaesthesia and after surgery analgesics will be applied.
- The animals are closely monitored for adverse effects like CRS and anaphylaxis by using a clinical scoring list and by monitoring heart rate and body temperature after treatment. In the unlikely event that this occurs, the animal is treated with antihistamines and corticosteroids and the CD117xCD3 BiTE treatment is stopped. The animal will be removed from the study and, if possible, kept alive and returns to the free stock once fully recovered.
- Animals are fasted the evening before the planned sedation to minimize the nausea. Drinking water will always be available.
- The animals are fed a high calorie diet (e.g. "brokkenballen") to minimize the effects of the lack of appetite due to frequent or longer sedations. During the CD117xCD3 BiTE treatment, in case animals are sedated two times per day on two subsequent days, animals will receive nutrients via gavage. Furthermore, body weight is monitored every time the animal has to be sedated for handlings.
- The animals are socially housed and are separated for the shortest possible time needed for handlings to minimize stress.
- The animals are provided with adequate analgesia before and after bone marrow samplings to minimize discomfort.
- Blood biochemistry and haematology values will be closely monitored during and after treatment for signs of organ damage.
- Symptoms of GvHD are included in the clinical scoring list. Clinical scoring is performed two times per day. In addition, clinical chemistry is performed to monitor organ function. Bilirubin levels are specifically monitored as a sign of GvHD (as specified in: *Stadiëring en gradering acute GvHD - Hematologie-Wijzer*). In the study protocol animals are treated with cyclophosphamide, on day 3 and 4 after HSCT to reduce the risk of GvHD. In addition, the duration of the study is limited to twelve weeks, a time frame in which GvHD is not likely to occur.
- Cyclophosphamide induced adverse events typically occur after prolonged treatment. In this protocol treatment will be limited to two days. Possible symptoms arising from the cyclophosphamide treatment have been integrated in the clinical scoring list.
- The period of single housing will be limited to the utmost. Animals will be housed in the same cage

(but separated from) their cage-mate, allowing contact by eye and sound. Immediately, after they recover these two animals are reintroduced to each other.

E. Humane endpoints

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

☐ No > Continue with question F

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

Animals are monitored closely after treatment for adverse effects in heart rate and body temperature as well as other clinical symptoms. A clinical scoring list is used, including, alertness, posture, dehydration, nausea, diarrhoea, conjunctivitis, breathing pattern, temperature increase, heart rate. A clinical score of 35 serves as a humane endpoint. This score is reached as one or more of the following signs occur: impaired ambulation preventing access to food or water; excessive weight loss (>20% and no recovery over the next five days) or emaciation; lack of physical or mental alertness; difficult labored breathing; prolonged inability to remain upright. Clinical scoring is performed twice per day, starting from day 0. Should platelet, red blood cell and white blood cell levels not recover by day 28 after HSCT then the animals will be euthanized.

Indicate the likely incidence.

No severe adverse effects were observed when CD117xCD3 BiTE was tested in humanized mice. While the daily sedations, during the first week of the study, form a heavy burden on the animals, similar high frequency bleeding schedules have been used in studies in non-human primates where CD117 alone was tested as a stem-cell depleting agent. We estimate the incidence of reaching a humane endpoint as less than 10%.

F. Classification of severity of procedures

Provide information on the experimental factors contributing to the discomfort of the animals and indicate to which category these factors are assigned ('non-recovery', 'mild', 'moderate', 'severe'). In addition, provide for each species and treatment group information on the expected levels of cumulative discomfort (in percentages).

- 1) Intravenous injection: moderate due to frequency of the handlings.
 - 2) Blood samplings: moderate due to the high number and daily bleeding at the start of the study.
 - 3) Bone marrow biopsy with adequate analgesia provided: moderate due to frequency of the handlings
 - 4) Insertion and removal of the temperature sensor: moderate
 - 5) Antibiotic treatment: moderate
 - 6) Single housing: moderate
- cumulative discomfort: moderate

G. Replacement, reduction, refinement

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

Replacement	Unfortunately, <i>in vitro</i> experiments of antibody reagents do not allow for the investigation of the complex interactions and potential side-effects of CD117xCD3 BiTE in a living organism. Therefore, pre-clinical testing using <i>in vitro</i> laboratory models is impossible. However, humanized mice mimic the complexity of CD117xCD3 BiTE - mediated hematopoietic stem cell targeting and stem cell transplantation in human and therefore allow pre-clinically relevant research. As our reagent doesn't cross-react with mouse CD117, the targeting of CD117-expressing cells in other tissues than the humanized bone marrow is not captured in humanized mice. In addition, pre-clinical mouse models do not have the same immune cell distribution compared to human. Therefore, potential CD117xCD3 BiTE -induced adverse effects due to depletion of CD117-expressing cells other than hematopoietic stem cells or cytokine release syndrome cannot be fully investigated in mouse models. Non-human primates such as rhesus macaques are the only other well-characterized
-------------	--

	species in which CD117 cross-reacts with the CD117xCD3 BiTE compound that is developed for clinical use. Rhesus macaques express CD117 at levels comparable to human, in the same tissues and on the same cell types. In addition, the human CD117 protein is well-conserved in rhesus macaques. We have shown that CD117xCD3 BiTE reagent cross-reacts with rhesus macaque CD117 and CD3 expressed on T cells. For that reason, validation studies in non-human primates are needed to ensure safety of CD117xCD3 BiTE in human. Moreover, rhesus macaques, like humans, exhibit genetic diversity, which makes this model more relevant and better reflecting human situation. Therefore, our expected results are highly relevant for the translation of the bone marrow conditioning and hematopoietic stem cell transplantation results to the human situation.
Reduction	The experiments will be conducted using minimal numbers of animals that would guaranty data robustness. The number of animals will be determined on the basis of experience gained in <i>in vivo</i> experiments in mice and on experiments with other bone marrow conditioning protocols in combination with HSCT performed previously in macaques.
Refinement	When the animals are sedated multiple times per day (only on day 0), or daily (during the first week of the study), they will be fed a calorie rich diet (e.g. "brokkenballen") to compromise for the lack of appetite. During oral antibiotics treatment animals will receive nutrients via gavage.

Are adverse environmental effects expected? Explain what measures will be taken to minimise these effects.

☐ No

☒ Yes > Describe the environmental effects and explain what measures will be taken to minimise these effects.

Cyclophosphamide as well as ATG are toxic if swallowed. Also contact through the skin or eyes should be avoided. Personnel working with the substance have to wear protective clothing, eye/face protection and use double nitrile gloves. The materials will be handled in properly equipped laboratories and animal facilities to prevent any spill into the environment. All waste, including animal waste, will be collected and stored for three days before disposal to allow decay. It will then be disposed by incineration.

H. Re-use

Will animals be used that have already been used in other animal procedures ?

☐ No > Continue with question I.

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

Animals that will be used in these experiments have possibly been used in previous experiments. In view of the long life of the animals of this species re-use of animals will take place within the limitations described in art 1e of the Wet op de Dierproeven

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

☒ No

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

I. Repetition

Explain for legally required animal procedures what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, describe why duplication is required.

The CD117xCD3 BiTE reagent is a novel drug developed and recently patented. A thorough literature review was performed and no prior art regarding our work (compound and its aims) has been found

J. Location where the animals procedures are performed

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

☒ No > Continue with question K.

☐ Yes > Describe this establishment.

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

End of experiment

K. Destination of the animals

Will the animals be killed during or after the procedures?

☐ No > Provide information on the destination of the animals.

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

Organs are collected for histopathological examination to detect possible adverse events of the treatment. Furthermore, due to the allogeneic HSCT severe GvHD may develop in time, which can cause serious health problems necessitating long term immune-suppressive treatments. Because of the cyclophosphamide treatment development of GvHD is unlikely to develop during the planned study period of maximum twelve weeks.

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

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

☒ Yes > Will a method of killing be used for which specific requirements apply?

☒ No > Describe the method of killing.

Animals will first be deeply sedated by intramuscular injection of ketamine and medetomidine, followed by an intravenous or intracardial injection of barbiturates.

☐ Yes > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

If animals are killed for non-scientific reasons, justify why it is not feasible to rehome the animals.

1. Curtis D. J., et al. Graft-versus-Host Disease Prophylaxis with Cyclophosphamide and Cyclosporin. *N Engl J Med.* **393**, 243-254 (2025).
2. Burwitz B. J., et al. Allogeneic stem cell transplantation in fully MHC-matched Mauritian cynomolgus macaques recapitulates diverse human clinical outcomes. *Nat Commun.* **8**, 1418 (2017).
3. Brining D. L., et al. Thoracic radiography as a refinement methodology for the study of H1N1 influenza in cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). *Comp Med.* **60**, 389-395 (2010).
4. Radtke S., et al. A distinct hematopoietic stem cell population for rapid multilineage engraftment in nonhuman primates. *Sci Transl Med.* **9**, (2017).
5. Uchida N., et al. Fertility-preserving myeloablative conditioning using single-dose CD117 antibody-drug conjugate in a rhesus gene therapy model. *Nat Commun.* **14**, 6291 (2023).



Appendix

Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information on the project proposal, see the Guidelines to the project licence application form for animal procedures on our website (www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0800-789 0789).

1 General information

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

5.1.2.e

- 1.2 Provide the name of the licenced establishment.

5.1.2.e

- 1.3 List the serial number and type of animal procedure

Serial number	Type of animal procedure
2	Donor bone marrow collection

Use the numbers provided at 3.4.3 of the project proposal.

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

The aim of this appendix is to collect hematopoietic stem cells for the allogenic stem cell transplantation described in appendix 1.

All procedures will be performed in sedated animals and are described in already existing institutional SOPs.

Only two procedures will be involved: Bone marrow puncture to collect stem cells which will serve as donor for appendix 1. Blood sampling to prepare platelet rich plasma and packed red blood cells to treat severe decreases in platelet and red blood cell number of the recipient animals of appendix 1.

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

Before sampling, the animals will be sedated by intramuscular injection of ketamine and medetomidine. To prevent pain the animals are also given an opioid. Bone marrow is collected from the humerus (caput humeri), using a disposable bone marrow biopsy/aspiration needle.

Bone marrow aspirates will be sampled from alternating arms of the macaques at a minimum interval of 2 weeks with a maximum of 8 samplings per animal. This high number is needed because the cell yield can vary between 50 and 300 million cells per aspirate. Between 1 and 5 million hematopoietic stem cells (HSC) can be isolated per 100 million bone marrow cells. The number of stem cells per aspirate can therefore vary

between 0.5 and 15 million. These values will vary over the different subsequent aspirates being taken. On average the yield in HSC per aspirate can reasonably be estimated as 2.5 million. For successful engraftment between 3 and 10 million HSC need to be given per kg to the recipient ¹. Assuming a body weight of 6 kg would imply a minimum number of 18 million HSC needed for transplantation.

The bone marrow donor animals will also be used to obtain platelet enriched plasma and packed red blood cells in case a blood transfusion is needed in the recipient animal (see appendix 1). Maximum four extra blood draws may be taken. Blood volumes to be taken will not exceed a maximum of 0.7% max per bleeding (1% of the body weight per 4 weeks).

Animals will be selected based on their MHC molecules. All animals in the Institute's colony are already MHC typed. This allows proper selection of donor/recipient combinations and makes it possible to discriminate between autologous (recipient) and allogeneic (donor) cells upon HSCT.

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

Bone marrow aspirates will be sampled from alternating arms of the macaques at a minimum interval of 2 weeks with a maximum of 8 samplings per animal. This should make it possible to obtain the required minimum of 18 million cells needed for HSCT. However, if the obtained number of HSC is higher than expected one donor monkey may be sufficient for treating two HCST recipients and less animals are needed. Furthermore, when fewer animals are treated in appendix 1 then also less animals will be needed in appendix 2. In contracts, when the number of HSC is lower than expected then more animals are needed. Since maximum ten animals will be included in the studies described in appendix 1 we request permission to use maximum twenty donor macaques.

B. The animals

Specify the species, origin, life stages, estimated numbers, gender, genetic alterations and, if important for achieving the immediate goal, the strain.

Serial number	Species	Origin	Life stages	Number	Gender	Genetically altered	Strain
	Rhesus macaque (<i>macaca mulatta</i>)	5.1.2.e	Adult	20	Male and/or female	no	Not applicable

Provide justifications for these choices

Species	Rhesus macaque The recipient in appendix 1 will be a rhesus macaque so the donor needs also to be a rhesus macaque.
Origin	All animals are housed and bred at the 5.1.2.e
Life stages	Adult.
Number	20
Gender	It is not expected that there are gender-dependent effects, therefore males and/or females can be included
Genetic alterations	No
Strain	No

C. Accommodation and care

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

☒ Yes

☐ No > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices

D. Pain and compromised animal welfare

Will the animals experience pain during or after the procedures?

☐ No

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

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

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

Adequate analgesia will be provided during, and if needed after, the bone marrow biopsy (Opioids).

All procedures will be performed under sedation to minimize discomfort of the handlings.

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

- All procedures will be performed under sedation. Recovery from sedation may cause nausea, lack of appetite, and dizziness.
- Handlings may cause stress. The animals will have to be temporarily separated from their cage buddy for injection of the sedative.
- Bone marrow sampling may cause pain and local irritation.

Explain why these effects may emerge.

- Nausea, lack of appetite, and dizziness is caused by the sedation agents used.
- Rhesus macaques are social animals. Frequent changes and interferences in their normal routines cause stress.
- When collecting bone marrow, the skin and bone will be punctured by a bore needle.

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

- Animals are fasted the evening before the planned sedation to minimize the nausea.
- The animals are socially housed and are separated for the shortest possible time needed for handlings to minimize stress.
- The animals are provided with adequate analgesia before and after bone marrow samplings to minimize discomfort.

E. Humane endpoints

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

☒ No > Continue with question F

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

Indicate the likely incidence.

F. Classification of severity of procedures

Provide information on the experimental factors contributing to the discomfort of the animals and indicate to which category these factors are assigned ('non-recovery', 'mild', 'moderate', 'severe'). In addition, provide for each species and treatment group information on the expected levels of cumulative discomfort (in percentages).

- 1) Bone marrow biopsy with adequate analgesia provided: mild cumulative discomfort: moderate due to frequency of the handlings

G. Replacement, reduction, refinement

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

Replacement	Unfortunately, <i>in vitro</i> experiments of antibody reagents do not allow for the investigation of the complex interactions and potential side-effects of CD117xCD3 BiTE in a living organism. Therefore, pre-clinical testing using <i>in vitro</i> laboratory models is impossible. As described in appendix 1, rhesus macaques will be used to evaluate CD117xCD3 BiTE for effectivity in depleting autologous HSC and allowing subsequent engraftment with allogeneic HSC. These allogeneic HSC need to be collected from animals from the same species; rhesus macaques.
Reduction	To reduce number of animals, bone marrow aspirates will be taken repeatedly from the same animal, using alternating arms of the macaques and at a minimum interval of 2 weeks with a maximum of 8 samplings.
Refinement	All procedures will be performed under anaesthesia. Adequate analgesia will be provided before and after bone marrow samplings, to reduce discomfort of the animals.

Are adverse environmental effects expected? Explain what measures will be taken to minimise these effects.

☒ No

☐ Yes > Describe the environmental effects and explain what measures will be taken to minimise these effects.

H. Re-use

Will animals be used that have already been used in other animal procedures ?

☐ No > Continue with question I.

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

If the animals have not previously been submitted to studies that have lasting effects on the bone marrow, they can be used for this appendix.

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

☒ No

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

I. Repetition

Explain for legally required animal procedures what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, describe why duplication is required.

NA.

J. Location where the animals procedures are performed

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

☒ No > Continue with question K.

☐ Yes > Describe this establishment.

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

End of experiment

K. Destination of the animals

Will the animals be killed during or after the procedures?

☒ No > Provide information on the destination of the animals.

The animal are returned to the 5.1.2.e colony for research

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

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

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

☐ Yes > Will a method of killing be used for which specific requirements apply?

☐ No > Describe the method of killing.

☐ Yes > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

If animals are killed for non-scientific reasons, justify why it is not feasible to rehome the animals.

1. Curtis D. J., et al. Graft-versus-Host Disease Prophylaxis with Cyclophosphamide and Cyclosporin. *N Engl J Med.* **393**, 243-254 (2025).

Format DEC-advies

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

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

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD^{5.1.2.e} 202619186
2. Titel van het project: Preclinical testing of CD117xCD3 BiTE for safe bone marrow conditioning prior to stem cell transplantation
3. Titel van de NTS: Het testen van de effectiviteit en veiligheid van een nieuwe methode voor beenmergtransplantatie.
4. Type aanvraag:
 - ✓ nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: ^{5.1.2.e}
 - telefoonnummer contactpersoon: ^{5.1.2.e}
 - e-mailadres contactpersoon: ^{5.1.2.e}
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ✓ ontvangen door DEC: 10-03-2026, verzoek advies ontvangen van CCD: 19-03-2026
 - ✓ aanvraag compleet: 01-04-2026.
 - ✓ in vergadering besproken: 20-03-2026 en 10-04-2026
 - == anderszins behandel NVT
 - ✓ termijnonderbreking(en) van 26-03-2026 tot 01-04-2026
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen NVT
 - ✓ aanpassing aanvraag: 01-04-2026
 - ✓ advies aan CCD: 17-04-2026
7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD.
De aanvrager heeft het projectvoorstel afgestemd met de IvD en het met instemming van de IvD ingediend bij de CCD.

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: NVT

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: 26-03-2026
- Gestelde vraag/vragen betroffen de volgende onderwerpen:
 - Achtergrond betreffende ervaring met beenmergtransplantatie
 - Onderbouwing mate van beoogde depletie stamcellen en T-cellen
 - Onderbouwing mate van beoogd chimerisme
 - Risico op opportunistische infecties en mogelijke preventieve maatregelen
 - Wijze van toedienen transplantaat
 - Criterium voor succesvolle T-cel depletie
 - Maatregelen indien er tekorten ontstaan in een van de hematopoietische compartimenten na transplantatie
 - Statistische methode
 - Mogelijke bijwerkingen cyclophosphamide
 - Humane eindpunten ter voorkomen ernstig ongerief
 - Mogelijkheid van het optreden van "seizures"
 - Mogelijke verfijning van stamcel oogsten bij donoren
 - Gebruik stamcel donoren die om andere reden gedood worden
- Datum antwoord: 01-04-2026
 - Verstrekte antwoorden waren helder en de antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag. Wel heeft de DEC gediscussieerd over het ongerief van solitaire huisvesting naar aanleiding van de gestelde vraag over het risico op opportunistische infecties.

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

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig.

2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.

3. *Is de DEC competent om hierover te adviseren?*

De commissie heeft voldoende expertise, inbegrepen onderzoek aan stamcel transplantaties, statistische analyse, onderzoek met niet-humane primaten, en toepassing van alternatieven op deze gebieden. Ook is er voldoende expertise op gebied van ontwerp van dierproeven, proefdiergeneeskundige praktijk, het houden en verzorgen van dieren, ethiek en proefdieren en hun bescherming.

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.* NVT

C. Beoordeling (inhoud)

1. *Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft.*
 Voor ziektes van bloedcellen zoals o.a. SCID, beta-thalassemie en Fanconi anemie is een transplantatie met gezonde bloedvormende stamcellen van een gezonde donor een veel gebruikte therapie. Echter de huidige conditionering van de ontvanger van stamcellen om ruimte te maken voor de te transplanteren stamcellen door middel van chemotherapie of bestraling veroorzaakt veel ongewenste bijwerkingen. Het project betreft daarom het testen van een nieuwe methode om in een ontvanger van allogene stamcellen ruimte te creëren voor de te transplanteren stamcellen waarbij de toxiciteit van nu gebruikelijke technieken wordt vermeden. CD117 is een eiwit dat vooral tot expressie komt op bloed stamcellen. Door zeer gericht de stamcellen van de ontvanger te doden met een nieuw middel (CD117xCD3 BiTE) worden alleen de CD117 positieve cellen gedood. Omdat CD117 niet alleen tot expressie komt op stamcellen, maar ook op diverse andere cellen, waaronder mestcellen, moet de veiligheid en effectiviteit van deze methode eerst in een relevant diermodel getest worden. Daartoe zal eerst de dosering van CD117xCD3 BiTE worden bepaald waarbij ten minste een 50% depletie van CD117 positieve cellen uit het beenmerg wordt bewerkstelligd. Daarnaast zullen de dieren nauwkeurig beoordeeld worden op mogelijke bijwerkingen. Hierbij zal stapsgewijs te werk worden gegaan en pas meer dieren worden ingezet als duidelijk is dat nadat het eerste dier geen ernstige bijwerkingen ondervindt. Wanneer de stamcel depletie voldoende is, zal er ook T-cel depletie plaatsvinden en vervolgens, na voldoende T-cel depletie, een allogene stamceltransplantatie. Er is een duidelijk beslisprotocol waardoor het helder is wat de dieren zullen ondergaan en hoe er zorg wordt gedragen dat er niet onnodig veel dieren worden ingezet.
2. *Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Wet Natuurbescherming).*
 Er is, zover de DEC kan overzien, geen tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan.
3. *Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel.*
 De aangegeven doelcategorie, te weten 'translationeel of toegepast onderzoek', sluit aan bij het projectvoorstel. In deze projectaanvraag wordt een nieuwe methode om stamceltransplantatie uit te voeren op veiligheid en werkzaamheid getest.

Belangen en waarden

4. *Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld.*
 Het directe doel van dit project is het testen van veiligheid en werkzaamheid van een nieuwe methode om stamcellen te transplanteren. Stamceltransplantatie wordt in de kliniek toegepast voor maligniteiten van het bloedcel systeem, voor ziekten waarbij de het bloedcel systeem is aangetast. De klassieke methode voor stamceltransplantatie houdt in dat de ontvanger een voorbehandeling krijgt met chemotherapie en/of bestraling om het eigen stamcel compartiment en de afwijkende bloedcel compartimenten uit te schakelen. Deze voorbehandeling heeft naast de bedoelde werking (ruimte creëren voor nieuwe allogene stamcellen en de behandeling van de aangedane bloedcel compartimenten) ook veel bijwerkingen. CD117 komt vooral tot expressie op stamcellen, sommige hematologische maligniteiten, maar ook op bijvoorbeeld mestcellen, en niercellen. Het doden van CD117 positieve cellen kan ruimte in het beenmerg creëren voor nieuwe allogene cellen en maligne cellen doden. Echter er bestaat ook een risico

op (ernstige) bijwerkingen doordat ook andere cellen worden gedood. In muizenstudies met muizen die een humaan beenmerg compartiment hadden, is de potentiële werkzaamheid van CD117xCD3 BiTE al getest en werkzaam bevonden. Echter bij deze muizen was alleen het beenmerg compartiment CD117 positief en kon de mogelijke toxiciteit op andere cellen niet geëvalueerd worden. Daarom is het van belang dit in een relevant diersoort te testen. Het uiteindelijke doel is toepassen van CD117xCD3 BiTE in de kliniek. Het directe doel heeft een reële directe relatie met het uiteindelijke doel.

5. *Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld).*
De belangrijkste belanghebbenden in dit project zijn: de proefdieren, de wetenschap en de onderzoekers, de patiënten, en de ontwikkelaars/producenten van CD117xCD3 BiTE.
Waarden die voor proefdieren in het geding zijn: De integriteit van de dieren zal worden aangetast, de dieren zullen frequent handelingen ondergaan om bloed of beenmerg te kunnen afnemen en CD117xCD3 BiTE en stamcellen te kunnen toedienen. De dieren hebben er belang bij gevrijwaard te blijven van ongerief en inbreuk op hun integriteit.
De wetenschap en de onderzoekers hebben er belang bij dat er meer kennis wordt verkregen over de behandeling met CD117xCD3 BiTE en deze kennis kan worden toegepast bij vergelijkbare behandelingen. De onderzoekers zullen profijt hebben van het publiceren van hun opgedane kennis.
Voor patiënten is dit project van belang omdat er een methode zal worden getest die bij beenmerg/stamcel transplantatie minder bijwerking zal geven waardoor de kwaliteit van leven zal verbeteren. De maatschappij heeft ook baat bij deze methode omdat met minder bijwerkingen de kosten van de zorg voor de patiënten zal verminderen.
De producent van CD117xCD3 BiTE heeft baat bij de kennis gegenereerd in deze studie en heeft een economisch belang.

6. *Geef aan of er sprake kan zijn van substantiële milieueffecten. Zo ja, benoem deze, leg uit waarom daar sprake van kan zijn en geef aan of deze effecten afgedekt*
Er zijn geen substantiële milieueffecten te verwachten binnen de kaders of ten gevolge van dit project.

Proefopzet en haalbaarheid

7. *Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe.*
De kennis en kunde van de onderzoeksgroep is evident gezien de wetenschappelijke output en aandacht voor de drie V's. De onderzoeksgroep heeft vele jaren ervaring met het testen van nieuwe middelen die het immuunsysteem beïnvloeden.
8. *Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe.*
De DEC is ervan overtuigd dat het projectvoorstel goed is opgezet. Het onderzoek zal stapsgewijs worden uitgevoerd met heldere beslismomenten. Hierdoor zal worden bewerkstelligd dat bij onverwachte bijwerkingen tijdig kan worden ingegrepen en de juiste doseringen van de te evalueren therapie toegepast zal worden. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen naar de mening van de DEC leiden tot het behalen van de doelstelling in het kader van het project.

Welzijn dieren

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

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

De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op de vergelijkbare expressie van CD117 bij de aap, dit in tegenstelling tot gehumaniseerde muizen. Daardoor zal een vertaling naar de klinische situatie mogelijk zijn.

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

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe.

De huisvesting en verzorging voldoet aan de vereisten in bijlage III. Het kan voorkomen dat een dier in de proef door een verzwakt immuunsysteem een infectieziekte oploopt. In dat geval zal zo'n dier individueel (met de voormalige kooigenoot binnen zicht, geur en gehoor) gehuisvest worden. De DEC acht de kans hierop klein. Hoewel de bloedstamcellen zullen worden gedood met CD117xCD3 BiTE, is de verwachting dat dit niet volledig zal zijn, waardoor er in de periode direct na de behandeling toch nieuwe bloedcellen kunnen worden aangemaakt. Ook de ATG behandeling kan het immuunsysteem onderdrukken. In het verleden is veel ervaring met ATG binnen het instituut opgebouwd zonder dat dit tot significante opportunistische infecties heeft geleid.

11. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe.
- Het ongerief wordt veroorzaakt door de experimentele technieken, de toegediende middelen en de klinische symptomen ten gevolge deze middelen en de getransplanteerde stamcellen. Er wordt een uitgebreide klinische scoringslijst gebruikt om tijdig te kunnen ingrijpen en de dieren zo nodig te doden om te voorkomen dat er ernstig ongerief optreedt. Niet alle dieren zullen alle met ongerief gepaard gaande handelingen ondergaan. Zo zal bij een individueel dier

antibiotica behandeling en solitaire huisvesting alleen worden toegepast indien een (bacteriële) infectie dit vereist. De inschatting van het cumulatieve ongerief wordt terecht als matig ingeschat voor alle dieren onder andere door de helder ingerichte humane eindpunten.

12. Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake is van aantasting van integriteit.

De integriteit van de dieren wordt aangetast door de dieren te behandelen met middelen die het immuunsysteem aantasten. Deze aantasting is van voorbijgaande aard wanneer de bloedcellen weer op het juiste niveau zijn gekomen.

13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw beoordeling toe.

Naar de mening van de DEC zijn de humane eindpunten zorgvuldig beschreven. Aan de hand van een uitgebreide klinische scoringslijst, die twee keer per dag wordt ingevuld, wordt bepaald of een humaan eindpunt wordt bereikt. De kans dat dieren een humaan eindpunt bereiken wordt ingeschat op maximaal 10% van de dieren die een stamceltransplantatie ondergaan. Voor de donor dieren worden geen humane eindpunten verwacht omdat bij deze dieren alleen beenmerg wordt afgenomen waarbij geen complicaties worden verwacht. Gezien de aard van de experimenten is de DEC het eens met deze inschatting.

3V's

14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn.

CD117 komt niet alleen voor op de bloedstamcellen. Daarom moet de veiligheid in een diersoort getest worden waar CD117 op vergelijkbare wijze als bij de mens tot expressie komt. Omdat CD117xCD3 BiTE specifiek is voor humaan CD117, kan dit alleen in een soort getest worden waarbij dit construct reactief is, namelijk bij niet-humane primaten. De effectiviteit kan daarom ook alleen in niet-humane primaten getest worden. De DEC is ervan overtuigd dat er nog geen vervangingsalternatieven zijn.

15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Licht uw beoordeling toe.

Het aantal dieren in bijlage 1 is gebaseerd op gegevens van vergelijkbare studies. Het aantal dieren in bijlage 2 wordt bepaald door de opbrengst aan stamcellen per beenmergafname. De DEC is ervan overtuigd dat de onderzoekers er zorg voor dragen het aantal te gebruiken dieren tot een minimum zal worden beperkt.

16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Licht uw beoordeling toe.

De uitvoering is verfijnd door gebruik te maken van sociaal gehuisveste dieren die goed aan mensen gewend zijn, de dieren zijn bovendien getraind om zo veel mogelijk mee te werken aan bepaalde dier-technische handelingen, waardoor ze minder stress ervaren. Wanneer de

dieren meerdere keren per dag en dagelijks worden gesedeerd voor bloed of beenmergafname krijgen de dieren aangepast voedsel (brokkenballen) of wanneer er orale antibiotica worden gegeven via orale gavage. Waar nodig wordt analgesie gegeven. De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager alle mogelijk verfijning zal toepassen.

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

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd.
Dieren van beide geslachten zullen worden gebruikt.
19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Zo niet, beoordeel 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.
De dieren die een stamceltransplantatie ondergaan zullen worden gedood aan het einde van de proef voor het verzamelen van weefsel voor analyse. Het doden van de dieren wordt uitgevoerd volgens de richtlijnen.
20. Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is.
De dieren uit bijlage 1 worden gedood om wetenschappelijke reden. Hergebruik van de dieren uit bijlage 2 is mogelijk. Hergebruik zal plaats vinden binnen de kaders omtrent dierenwelzijn en wetenschappelijke criteria ten aanzien van de dierproef.

NTS

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

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag.

Rechtvaardigt het testen van een potentieel veiliger en minder toxische methode als voorbehandeling voor stamceltransplantatie gebaseerd op middel CD117xCD3 BiTE het ongerief dat niet-humane primaten in dit onderzoek wordt aangedaan? En is het gebruik van maximaal 30 (10 stamcel ontvangers en 20 stamcel donoren) niet-humane primaten wetenschappelijk noodzakelijk om deze veiligheids- en werkzaamheidsgegevens te verkrijgen, of kunnen vergelijkbare inzichten worden verkregen met alternatieve onderzoeksmodellen, zoals andere proefdiersoorten of niet-dierlijke methoden?

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.

Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en de autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te laten ondergaan. Ze zullen matig ongerief ondervinden door de behandelingen en enige pijn ondervinden door bloed- en beenmergafnames en injecties. De dieren hebben er baat bij hiervan gevrijwaard te blijven.

De waarde voor patiënten is dat er een minder agressieve vorm komt om hen voor te bereiden op het ontvangen van een allogene beenmerg transplantaat. Hierdoor zullen deze patiënten sneller herstellen van deze ingreep en zal hun kwaliteit van leven beter zijn dan met de nu gebruikelijk methodes om hen voor te bereiden op stamceltransplantatie. Ook komen meer patiënten (zoals immunodeficiëntie, sikkcel anemie) in aanmerking voor de te ontwikkelen behandeling dan de voor de klassieke methode het geval is.

De waarden voor de samenleving is dat de patiënten sneller kunnen terugkeren naar de maatschappij en dat daarmee ook de belasting voor de zorg zal verminderen. Ook zullen de patiënten op de lange termijn minder zorgbehoeftes hebben.

De DEC is van mening dat deze belangen van patiënten en samenleving een groot belang vertegenwoordigen

De waarde voor het onderzoeksveld is dat er meer kennis komt over het gebruik van CD117xCD3 BiTE om bloedstamcellen te elimineren. De waarde van de producent van CD117xCD3 BiTE is een economische. Voor de onderzoekers geldt dat het publiceren van belangrijke nieuwe wetenschappelijke inzichten resulteert in een goede wetenschappelijke reputatie, wat vaak de sleutel is voor het verkrijgen van nieuwe onderzoeksmiddelen en mogelijkheden.

Carrière mogelijkheden en status kunnen door de onderzoeker en de onderzoeksinstelling zelf van belang geacht worden (en een drijfveer zijn), maar dienen naar de mening van de DEC geen rol te spelen in de ethische afweging over de toelaatbaarheid van het gebruik van proefdieren. Het gaat uiteindelijk om de vraag of dit onderzoek belangrijke wetenschappelijke en maatschappelijke doelen dient (kennis, gezondheid). Ditzelfde geldt voor het uiteindelijke economische belang van de industrie.

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 concludeert dat de belangen van de patiënten en de samenleving die worden nagestreefd in dit project zwaarder wegen dan de belangen van de betrokken proefdieren.

Het onderzoek is van groot belang voor mensen die een stamceltransplantatie moeten ondergaan wegens een ziekten van de bloedcellen, benigne of maligne. Jaarlijks wordt een dergelijk therapie toegepast bij 1,5 miljoen patiënten per jaar wereldwijd. Wanneer (in eerste instantie voor met name patiënten met een benige bloedziekte) een minder toxische voorbehandeling mogelijk is zal dit leiden tot een betere kwaliteit van leven voor deze patiënten en ook tot een vermindering van zorggebruik.

De kennis en kunde van de aanvrager wordt onderbouwd door het feit dat het instituut een lange geschiedenis kent van het evalueren van middelen die het bloedcel systeem beïnvloeden, inclusief beenmergtransplantatie en immunosuppressie in niet-humane primaten.

De haalbaarheid van de doelstellingen van dit project wordt als hoog ingeschat. Dit onderzoek kan alleen worden uitgevoerd in een diersoort waarbij de expressie van CD117 vergelijkbaar is met die bij de mens. Dit is alleen bij niet-humane primaten het geval en de resusaap voldoet aan dit criterium. Het belang van het onderzoek rechtvaardigt het gebruik van deze diersoort.

De dieren zijn afkomstig uit eigen fok, de 3V-principes worden gehonoreerd door toepassing van vooronderzoek in gehumaniseerde muizen en in vitro analyse, hergebruik van dieren, en aangepaste voeding wanneer de dieren frequent gesedeerd moet worden. Humane eindpunten worden toegepast en zijn zorgvuldig beschreven aan de hand van een klinische scorelijst die 2x per dag wordt ingevuld.

Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit doel en opzet van het project deze dierproeven rechtvaardigt.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

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

☞ De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...

2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een meerderheidsstandpunt, specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn.
Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.
3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project.
Er zijn geen knelpunten ondervonden; de inherente ethische dilemma's zijn hierboven uitgebreid uiteengezet.



Ontvangstbevestiging

Vergunning Dierproeven

Formulenummer A990028948819 - Zaaknummer: AVD 5.1.2.e 202619186
Ontvangstdatum 18-3-2026
Ontvangsttijd 12:06

Rijksdienst voor Ondernemend
Nederland

Postbus 40225
8004 DE Zwolle
www.rvo.nl

088 042 42 42 (lokaal tarief)

Formuliergegevens

Relatiegegevens

Relatienummer 5.1.2.e
KVK-nummer 5.1.2.e
Naam 5.1.2.e
Adres 5.1.2.e 5.1.2.e
5.1.2.e

Aanvraag vergunning

Uitvoerende instantie

Welke actie wilt u uitvoeren? Een nieuwe aanvraag indienen

Een nieuwe aanvraag indienen

Titel projectvoorstel Preclinical testing of CD117xCD3 BiTE for safe bone marrow conditioning prior to stem cell transplantation

Titel niet-technische samenvatting (NTS) Het testen van de effectiviteit en veiligheid van een nieuwe methode voor beenmergtransplantatie

Gewenste startdatum 1-6-2026

Gewenste einddatum	31-5-2028
Aantal beschrijvingen dierproeven	2
Dierexperimentencommissie (DEC) van uw voorkeur	DEC 5.1.2.e

Instantie voor Dierenwelzijn (IvD) gegevens

Telefoonnummer IvD	5.1.2.e
E-mailadres IvD	5.1.2.e

Gegevens verantwoordelijk onderzoeker

Titel verantwoordelijk onderzoeker	5.1.2.e
Voorletters verantwoordelijk onderzoeker	5.1.2.e
Achternaam verantwoordelijk onderzoeker	5.1.2.e
Geslacht verantwoordelijk onderzoeker	5.1.2.e
Functie verantwoordelijk onderzoeker	5.1.2.e
Afdeling verantwoordelijk onderzoeker	
Telefoonnummer verantwoordelijk onderzoeker	5.1.2.e
E-mailadres verantwoordelijk onderzoeker	5.1.2.e
Wilt u een plaatsvervangend onderzoeker invoeren?	Ja
Wilt u een voor uitvoering verantwoordelijke onderzoeker invoeren?	Nee

Gegevens plaatsvervangende onderzoeker

Titel plaatsvervangende onderzoeker	5.1.2.e
Voorletters plaatsvervangende onderzoeker	5.1.2.e
Achternaam plaatsvervangende onderzoeker	5.1.2.e
Geslacht plaatsvervangende onderzoeker	5.1.2.e
Functie plaatsvervangende onderzoeker	5.1.2.e
Afdeling plaatsvervangende onderzoeker	
Telefoonnummer plaatsvervangende onderzoeker	5.1.2.e
E-mailadres plaatsvervangende onderzoeker	5.1.2.e

Bijlagen

Geselecteerde bijlage(n)	Preclinical testing of CD117xCD3 BiTE for safe bone marrow conditioning prior to stem cell transplantation NTS.docx, Preclinical testing of CD117xCD3 BiTE for safe bone marrow conditioning prior to stem cell transplantation .pdf, Preclinical testing of CD117xCD3 BiTE for safe bone marrow conditioning prior to stem cell transplantation Clinical scores.docx, Preclinical testing of CD117xCD3 BiTE for safe bone marrow conditioning prior to stem cell transplantation Appendix 2.docx, Preclinical testing of CD117xCD3 BiTE for safe bone marrow conditioning prior to stem cell transplantation NTS.xlsx, Preclinical testing of CD117xCD3 BiTE for safe bone marrow conditioning prior to stem cell transplantation Appendix 1.docx, Preclinical testing of CD117xCD3 BiTE for safe bone marrow conditioning prior to stem cell transplantation Project proposal.docx
--------------------------	--

Gegevens ondertekening

Naam ondertekenaar

Functie ondertekenaar

Plaats van ondertekening

5.1.2.e



Clinical symptoms

Scoring list of clinical symptoms (Adapted to Brining *et al.*)
General Distress & Humane Endpoint Scoring Sheet for Nonhuman Primate

Parameter	What to look for (include but not limited to these clinical signs)	Date:
		Possible Score
General Appearance	Normal. Explores the environment, interaction with objects, normal social interaction, alert	0
	Reduced. Either one or more of the following: little movement, rare interaction with objects, reduced social interaction, hunched posture, less alert	5
	Strongly reduced. Either one or more of the following: no exploration, rarely moves, minimal reaction to stimulus	25
Skin and Fur	Normal. Healthy looking, shining fur. Normal skin color.	0
	Slightly deviating from normal. Ruffled fur, unkempt appearance.	5
	Slightly deviating from normal. Either one or more of the following: pallor, rash, redness <25% of skin surface, dehydration.	5
	Clearly deviating from normal. Either one or more of the following: Redness 25-50% of skin surface, icterus, petechiae, ecchymoses.	10
	Clearly deviating from normal. Either one or more of the following: Wound, abscess, ulcer, obvious swelling	10
	Strongly deviating from normal. Redness >50% of body surface	15
Nose, Mouth, Eyes, Head	Normal	0
	Either one or more of the following: nasal discharge, excessive salivation.	5
	Either one or more of the following: Ocular discharge, lacrimation, reddened eyes, ptosis.	5
	Bleeding from any Orifice (not related to procedures or menstruation)	10
Respiration	Normal	0
	Either one or more of the following: Increased or decreased respirations (<20 or >40/min), cough, sneezing,	5
	Dyspnea or resp. rate >50/min	15
	Open mouth breathing resp rate >60/min or cyanosis	35
Feces & Urine	Normal consistency and volume	0

	Either one or more of the following: decreased feces, dry, wet and pasty, watery feces, discoloration, decreased urine, discoloration	2
	Feces absent	5
	Either one or more of the following: Liquid feces (if debilitating), urine absent, blood in feces or urine	10
Food Intake	Normal (eating 90-100% of fruit and biscuits in the morning and enrichment and vegetables in the afternoon). Accepts food given by animal care-taker.	0
	Reduced appetite (eating 50-90% of offered food). In the morning reduced fruit or biscuits, in the afternoon reduced enrichment or vegetables	2 for each
	Strongly reduced appetite (eating 10-50% of offered food). In the morning strongly decreased fruit or biscuits, in the afternoon reduced enrichment or vegetables. Loss of interest in treats	5 for each
	vomiting	20
Locomotor, Neurological symptoms	Normal	0
	Hyperactivity (circling, increased aggression), hypoactivity (hunched, inactive, active with people in room)	5
	Ataxia, neurological signs (tremors, head tilt,)	10
	Either one or more of the following: Reluctant to move, uses cage for support, difficulty getting to food or water (decreased response to human presence), seizures	20
	Down with no or minimal response to human approach, coma	35
Fever and weight loss	Body temperature < 40°C. Weight loss < 10%	0
	Body temperature >40°C.	5
	Weight loss 10-20%	7
	Weight loss 20-30%, for maximum 5 days	20
	Weight loss 20-30% for six days, or >30%	35
Total score*		

Clinical scoring criteria. Animals will be monitored twice daily, using a clinical scoring list including: general appearance, appearance of skin and fur, nasal discharge, respiration, feces and urine amount and form, food intake, activity (Brining *et al.* 2010, Comp Med, vol. 60, p. 389-95).

*Scoring will start seven days before start of treatment and will then be performed once a day to get a baseline.

*The investigator is checking on fever (body temperature $>40^{\circ}\text{C}$) and weight (every sedation). Fever is scored as 5, weight loss of 10-20% is scored as 7, weight loss of 20-30% is scored as 10. These scores are added to the clinical score (both in the morning and the afternoon).

The PI in consultation with the Veterinarian will develop a plan of action for killing when an animal is severely ill.

*If a clinical score of 35 is reached, then this will serve as a clinical endpoint. Various clinical signs are indicative of a terminal state, these signs usually include one or more of the following: impaired ambulation preventing access to food or water; excessive weight loss ($>20\%$ and no recovery over the next five days or $>30\%$ on any moment) or emaciation; lack of physical or mental alertness; difficult labored breathing; prolonged inability to remain upright.

NIET-TECHNISCHE PROJECTSAMENVATTING

Naam van het project	Het testen van de effectiviteit en veiligheid van een nieuwe methode voor beenmergtransplantatie.
NTS-identificatiecode	NTS-NL-779998 v.1
Nationale identificatiecode van de NTS	NTS202619186 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>
Land	Nederland
Taal	nl
Indiening bij EU	ja <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>
Duur van het project, uitgedrukt in maanden.	24
Trefwoorden	beenmerg bestraling afweercellen resusaap antilichaam
Doel(en) van het project	Omzettinggericht en toegepast onderzoek: Andere aandoeningen van de mens

DOELSTELLINGEN EN VERWACHTE VOORDELEN VAN HET PROJECT

Beschrijf de doelstellingen van het project (bijvoorbeeld het aanpakken van bepaalde wetenschappelijke onduidelijkheden, of wetenschappelijke of klinische behoeften).	Het binnenste van onze botten bevat beenmerg. In het beenmerg bevinden zich stamcellen die verantwoordelijk zijn voor de aanmaak van ons bloed, welke bestaat uit rode en witte bloedcellen. Helaas kunnen de stamcellen in het beenmerg ziek worden wat kan leiden tot verschillende levensbedreigende ziektes zoals ernstige vormen van bloedarmoede, afweerstornissen en leukemie (bloedkanker). Deze zieke beenmergcellen zijn helaas nog niet te genezen, deze cellen moeten worden gedood. Om deze zieke cellen in het beenmerg te doden, krijgen patiënten normaal gesproken chemotherapie of bestraling, of allebei. Echter, deze behandelingen zijn niet zonder gevaar. De patiënten zijn vaak al verzwakt en hebben een hoog risico op levensbedreigende infecties. Bovendien kan weefselschade optreden, waardoor deze behandelingen ook nog effecten op latere leeftijd kunnen veroorzaken, zoals hartfalen, onvruchtbaarheid of kanker. Een oplossing voor deze bijwerkingen is de ontwikkeling van specifieke medicijnen die de zieke stamcellen uit het beenmerg van de patiënt doden en verwijderen. Hierdoor komt er ruimte in het beenmerg vrij voor nieuwe gezonde stamcellen. Deze nieuwe gezonde stamcellen maakt ons lichaam niet zelf aan, die zullen aan patiënten moeten worden toegediend via een stamceltransplantatie van een gezonde persoon (donor). Na de transplantatie van gezonde donorstamcellen zullen deze stamcellen in het beenmerg gezonde bloedcellen aanmaken. Patiënten zullen via deze techniek genezen met naar verwachting minimale bijwerkingen. Wij hebben recentelijk een nieuw type antilichaam ontwikkeld als medicijn en dit met succes in zieke muizen getest. Voordat dit zeer belovende medicijn bij mensen kan worden gebruikt, is bij diersoorten die dichter bij de mens staan, zoals apen, verplicht. In dit onderzoek moet worden bewezen dat de behandeling met onze antilichamen zowel veilig als effectief is. Een specifiek risico dat we moeten onderzoeken, is of het antilichaam bepaalde afweercellen activeert. Als dat gebeurt kan mogelijk een heftige ontstekingsreactie optreden een 'cytokinestorm'. Dit kan leiden tot levensbedreigende situaties, zoals verstoring van ademhaling, hartritme en orgaanfalen. Omdat het afweersysteem van de resusaap in grote mate overeen met de mens, is dit de meest betrouwbare manier om deze risico's in kaart te brengen. Wanneer deze testen in apen succesvol zijn, verwachten wij deze antilichamen op korte termijn in mensen te kunnen testen.
--	---

Welke potentiële voordelen kan dit project opleveren? Leg uit hoe de wetenschap vooruit kan worden geholpen of mensen, dieren of het milieu uiteindelijk voordeel kunnen hebben bij het project. Maak, waar van toepassing, een onderscheid tussen voordelen op korte termijn (binnen de looptijd van het project) en voordelen op lange termijn (die mogelijk pas worden bereikt nadat het project is afgerond).	Deze nieuwe patiëntgerichte aanpak maakt het mogelijk om zieke beenmergcellen te verwijderen zonder de huidige levensbedreigende bijwerkingen. Omdat chemotherapie en/of bestraling van het beenmerg niet meer nodig zal zijn, verdwijnt voor patiënten het verhoogde risico op hartfalen, onvruchtbaarheid of kanker op latere leeftijd. Bovendien biedt deze methode hoop aan een kwetsbare groep: patiënten die nu niet kunnen worden bestraald of een chemotherapie ondergaan, omdat ze te zwak zijn om deze zware behandeling te kunnen doorstaan. Zij komen nu vaak niet in aanmerking voor een genezende behandeling. Wij verwachten met onze antilichamen deze patiënten te kunnen genezen, of hen in ieder geval een betere kwaliteit van leven en langere levensverwachting te kunnen bieden.
--	---

VOORSPELDE SCHADE

In welke procedures worden de dieren gewoonlijk gebruikt (bijvoorbeeld injecties, chirurgische procedures)? Vermeld het aantal en de duur van deze procedures.	De dieren ondergaan de volgende handelingen onder verdoving: 1) Injectie in de spier en de bloedbaan, 2) Bloedafnames, 3) Beenmerg verzamelen uit een bot, 4) Monitoren van lichaamstemperatuur en hartritme. Voor het meten van de lichaamstemperatuur wordt een kleine sensor in de buikholte aangebracht. Hierdoor kan de temperatuur constant worden gemeten en nadelige effecten van de behandeling beter worden gevolgd. Dieren krijgen eerst een injectie in de bloedbaan met antilichamen (CD117xCD3 BiTE). Vervolgens worden er op vaste tijdstippen bloedmonsters afgenomen. In dit bloed zal onder andere de concentratie van CD117xCD3 BiTE worden bepaald en wordt gekeken naar afwijkingen die kunnen wijzen op ontsteking of onverwachte effecten op de organen. Hierbij zullen ook de lichaamstemperatuur en het hartritme worden gemeten en wordt gekeken naar eventuele andere bijwerkingen. Ook zal bij de dieren beenmerg worden afgenomen om de effectiviteit van de behandeling vast te kunnen stellen. Vervolgens wordt gekeken of het geven van gezonde stamcellen uit een donoraap leidt tot succesvolle vorming van nieuwe stamcellen in het beenmerg en of daaruit ook weer de juiste typen bloedcellen ontstaan. Deze cellen zouden echter kunnen worden afgestoten door de lichaamseigen bloedcellen. Deze lichaamseigen bloedcellen moeten daarom eerst worden verwijderd door het geven van drie injecties in de bloedbaan met antilichamen (ATG). Daarna krijgen de dieren via injectie in de bloedbaan een gezonde donorstamcellen van gezonde resusapen. Hieruit zullen dan nieuwe beenmergstamcellen en bloedcellen ontstaan. Deze bloedcellen kunnen echter gaan reageren tegen de lichaamseigen cellen, een probleem dat veel voorkomt bij stamceltransplantatie. Dit heet graft versus host disease (GvHD), een soort omgekeerde afstotingsreactie. Om dit te onderdrukken volgt drie dagen na de transplantatie een behandeling met cyclofosfamide. Met deze procedure wordt zoveel mogelijk de klinische praktijk bij beenmergtransplantaties gevolgd. Er zullen na de transplantatie op verschillende tijdstippen bloed- en beenmergmonsters worden afgenomen om te bevestigen dat de transplantatie gelukt is. De dieren kunnen tijdens deze behandeling gevoelig worden voor infectie. Ze krijgen dan antibiotica toegediend en zullen tijdelijk alleen zitten, zonder hun kooimaatje. Aan het eind van de studie worden de dieren gedood om te kunnen zien of er eventueel schadelijke effecten in de organen zijn opgetreden.																
Wat zijn de verwachte gevolgen/nadelige effecten voor de dieren, bijvoorbeeld pijn, gewichtsverlies, inactiviteit/verminderde mobiliteit, stress, abnormaal gedrag, en wat is de duur van die effecten?	Alle handelingen zullen onder verdoving plaatsvinden. Het ongerief van deze studie komt door: 1) Verdoving (licht ongerief): de dieren moeten nuchter blijven voor de sedatie (waarbij drinkwater vrij beschikbaar blijft). Het in slaap vallen en weer wakker worden veroorzaakt licht ongerief. 2) Injecties in de bloedbaan en in een spier (matig ongerief). 3) Bloedafnames (matig ongerief): doordat wij streng zullen toezien dat er niet te veel bloed wordt afgenomen zullen de apen van de bloedafname zelf minimaal ongerief ondervinden. 4) Medische ingrepen (matig ongerief): bij het verzamelen van beenmerg uit bot en bij het inbrengen en verwijderen van de temperatuur sensor zullen de dieren extra pijnstilling krijgen. 5) Mogelijke bacteriële infecties: de dieren worden dan met antibiotica behandeld (matig ongerief). 6) Mogelijke bijwerkingen (licht ongerief): Er is een kleine kans dat de antilichamen een reactie veroorzaken zoals koorts of afwijkend hartritme. Dit kunnen tekenen zijn van een mogelijk allergische reactie. Hoewel we dit niet verwachten, zullen de dieren direct behandeld worden met medicijnen (antihistaminica en corticosteroiden) als ze een reactie zouden krijgen. Hierdoor zullen de dieren, als er al bijwerkingen optreden, maar beperkt last hebben van deze bijwerking. 7) Tijdelijke zonder kooimaatje in een kooi zitten (matig ongerief). Hoewel de meeste handelingen in deze studie onder verdoving plaatsvinden en de dieren dus geen voortdurende pijn lijden, valt de totale belasting van dit onderzoek in de categorie 'matig ongerief'. Dit komt door de optelsom van alle handelingen.																
Welke soorten en aantallen dieren zullen naar verwachting worden gebruikt? Wat zijn de verwachte ernstgraden en de aantallen dieren in elke ernstcategorie (per soort)?	<table><tr><th rowspan="2">Soort:</th><th rowspan="2">Totaal aantal</th><th colspan="4">Geraamde aantallen naar ernstgraad</th></tr><tr><th>Terminaal</th><th>Licht</th><th>Matig</th><th>Ernstig</th></tr><tr><td>Rhesusapen (Macaca mulatta)</td><td>30</td><td>0</td><td>0</td><td>30</td><td>0</td></tr></table>	Soort:	Totaal aantal	Geraamde aantallen naar ernstgraad				Terminaal	Licht	Matig	Ernstig	Rhesusapen (Macaca mulatta)	30	0	0	30	0
Soort:	Totaal aantal			Geraamde aantallen naar ernstgraad													
		Terminaal	Licht	Matig	Ernstig												
Rhesusapen (Macaca mulatta)	30	0	0	30	0												

Wat gebeurt er met de dieren die aan het einde van de procedure in leven worden gehouden?	Soort:	Geraamd aantal te hergebruiken, in het habitat-/houderijsysteem terug te plaatsen of voor adoptie vrij te geven dieren		
		Hergebruikt	Teruggeplaatst	Geadopteerd
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	24	0	0
Geef de redenen voor het geplande lot van de dieren na de procedure.	Een deel van de dieren blijft na afloop in leven. Echter dieren die de behandeling met de nieuwe antilichamen (CD117xCD3 BiTE) hebben ondergaan worden na afloop van het experiment gedood om te onderzoeken of er schadelijke effecten in de organen zijn opgetreden. De dieren die blijven leven zullen worden ingezet bij andere experimenten.			

TOEPASSING VAN DE DRIE V'S

1. Vervanging

Beschrijf welke diervrije alternatieven op dit gebied voorhanden zijn en waarom zij niet voor het project kunnen worden gebruikt.

Het antilichaam CD117xCD3 BiTE is uitvoerig en met succes getest in kweekschalen. Echter, antilichaam-gebaseerde immunotherapie is afhankelijk van de complexe leefomgeving van de doelcellen, in dit geval in specifieke stamcellen in het beenmerg en de activiteit van ons immuunsysteem. Daarom kunnen de activiteit en bijwerkingen van CD117xCD3 BiTE alleen goed worden onderzocht in een levend dier. Wij hebben CD117xCD3 BiTE al getest in muizen die menselijke bloedstamcellen hadden in hun beenmerg. Deze resultaten waren goed. Echter, in de muis kan niet de uiteindelijke activiteit van CD117xCD3 BiTE zoals bij de mens worden bepaald. Bovendien kan in de muis, omdat doelantigeen van het antilichaam niet in deze dieren voorkomt niet de mogelijke bijwerkingen van CD117xCD3 BiTE op andere weefsels en organen worden onderzocht. Ook is het risico op bijwerkingen niet volledig te onderzoeken in een muis omdat de daarbij betrokken menselijke bloedceltypes minder of niet aanwezig zijn. Het bepalen van de activiteit van CD117xCD3 BiTE en het kunnen uitsluiten van eventuele bijwerkingen is essentieel om CD117xCD3 BiTE in patiënten te kunnen toedienen. Daarom kunnen wij niet anders dan eerst ons onderzoek voortzetten in een diemodel zoals de resusaap. Uit de resusaap krijgen wij relevante onderzoeksresultaten voor wat er in de mens kan worden verwacht. Belangrijk is te melden dat we met celkweken al hebben ontdekt dat CD117xCD3 BiTE kruis-reageert met de doelcellen in de resusaap.

2. Vermindering

Leg uit hoe de aantallen dieren voor dit project zijn bepaald. Beschrijf de stappen die zijn genomen om het aantal te gebruiken dieren te verminderen en de beginselen die zijn gebruikt bij het opzetten van de studies. Beschrijf, waar van toepassing, de praktijken die gedurende het hele project zullen worden toegepast om het aantal dieren die in overeenstemming met de wetenschappelijke doelstellingen werden gebruikt, tot een minimum te beperken. Deze praktijken kunnen bijvoorbeeld bestaan uit proefprojecten, computermodellen, het delen van weefsel en hergebruik.

Om de belasting voor de dieren zo laag mogelijk te houden en het aantal benodigde dieren te beperken, maken wij gebruik van geavanceerde micro-methodes. Hiermee kunnen we uit één klein bloedmonster een enorme hoeveelheid gegevens halen. Zo bepalen we niet alleen de halfwaardetijd van het medicijn (hoelang het in het lichaam blijft), maar meten we tegelijkertijd of er moleculen vrijkomen die wijzen op een beginnende ontstekingsreactie.

Als beenmergdonor kunnen gezonde apen vaker worden gebruikt wat het totaal aantal beenmergdonoren zoveel mogelijk beperkt houdt.

3. Verfijning

Geef voorbeelden van de specifieke maatregelen (bv. verscherpte monitoring, postoperatieve behandeling, pijnbestrijding, training van dieren) die in verband met de procedures moeten worden genomen om de welzijnskosten (schade) voor de dieren tot een minimum te beperken. Beschrijf de mechanismen om gedurende de looptijd van het project nieuwe verfijningstechnieken in gebruik te nemen.

Door het gebruik van micro-methodes kunnen we uit een minimaal bloedvolume alle benodigde informatie halen, waardoor de afnamehoeveelheden zo klein als mogelijk blijven.

Alle dieren hebben een vastgesteld trainingsprogramma waarbij de dieren zoveel mogelijk worden getraind om aan de handelingen die gerelateerd zijn aan de verdovingen te wennen en liefst mee te werken.

Voor en na het verzamelen van beenmerg uit bot en de operatieve ingreep voor het plaatsen en eventueel verwijderen van de temperatuur sensor zal er extra pijnstilling worden toegediend om de pijn die erbij betrokken is zoveel mogelijk te beperken.

Tijdens en na de behandeling met de nieuwe antilichamen (CD117xCD3 BiTE) zullen de dieren extra goed in de gaten worden gehouden op het optreden van bijwerkingen. Tijdens de verdovingen zullen ook de lichaamstemperatuur en hartritme worden gemonitord. Mochten er bijwerkingen optreden, dan zullen de dieren gelijk goed worden behandeld om deze tegen te gaan om het ongerief te beperken.

Licht de keuze van de soorten en de bijbehorende levensstadia toe	Uit ons laboratoriumonderzoek blijkt dat de resusaap op zijn bloedstamcel precies hetzelfde 'aanknooppunt' (target antigen) heeft als de mens. Wij hebben in kweekschalen al aangetoond dat ons antilichaam (CD117xCD3 BiTE) een perfecte kruisreactie vertoont met de cellen van de apen; het medicijn herkent de apencel dus net zo goed als de menselijke cel. Dit is van cruciaal belang, omdat het antigeen bij de resusaap op dezelfde organen en weefsels voorkomt als bij de mens. Gecombineerd met een afweersysteem dat sterk op dat van de mens lijkt, is de resusaap de enige diersoort die op betrouwbare wijze kan voorspellen of het medicijn veilig is voor patiënten. De onderzoeksresultaten zijn onmisbaar voordat we kunnen starten met het testen van dit medicijn bij mensen. Volwassen resusapen (<i>Macaca mulatta</i>) zullen worden gebruikt.
--	--

VOOR EEN BEOORDELING ACHTERAF GESELECTEERD PROJECT

Project geselecteerd voor BA?	ja
Termijn voor BA	31-05-2029
Reden voor de beoordeling achteraf	
Bevat ernstige procedures	
Maakt gebruik van niet-menselijke primaten	ja
Andere reden	
Toelichting van de andere reden voor de beoordeling achteraf	

AANVULLENDE VELDEN

Nationaal veld 1 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Nationaal veld 2 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Nationaal veld 3 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Nationaal veld 4 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Nationaal veld 5 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Startdatum project <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	01-06-2026
Einddatum project <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	31-05-2028
Goedkeuringsdatum project <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
ICD-code 1 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
ICD-code 2 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
ICD-code 3 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Link naar de eerdere versie van de NTS buiten het EC-systeem	

Doel(en) van het project

Omzettinggericht en toegepast onderzoek: Andere aandoeningen van de mens [PT32]



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

5.1.2.e

T.a.v. 5.1.2.e 5.1.2.e

5.1.2.e

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 93118
2509 AC Den Haag

centralecommissiedierproeven.nl
088 042 1000
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD 5.1.2.e 202619186

Datum 23 april 2026

Betreft Aanhouden aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 5.1.2.e 5.1.2.e

Op 18 maart 2026 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Preclinical testing of CD117xCD3 BiTE for safe bone marrow conditioning prior to stem cell transplantation". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AV 5.1.2.e 202619186.

In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In dit bericht leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

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

Niet technische samenvatting

- De doelcategorieën van uw NTS komen niet overeen met de doelcategorie genoemd in het projectvoorstel. Kunt u deze met elkaar in overeenstemming brengen?
- In uw NTS onder de kop 'procedures' gebruikt u de termen 'beenmergbipt', 'beenmergpunctie' en 'intraveneus'. Kunt u deze termen voor het algemene publiek uitleggen, zodat de NTS ook voor dit publiek navolgbaar is?
- In uw NTS onder de kop "geplande lot" staat niet vermeld wat er met de dieren gebeurt die in leven blijven. Kunt u dit toevoegen?

Onduidelijkheden

- Uit onze administratie blijkt dat de leges nog niet zijn overgemaakt. Kunt u nagaan of de factuur reeds is betaald?

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

Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen 14 dagen na de datum van dit bericht op. U kunt dit aanleveren via het formulier op mijn.rvo.nl/dierproeven.

Mochten uw antwoorden voor vrijdag 1 mei door ons ontvangen zijn, kunnen deze worden meegenomen tijdens de inhoudelijke bespreking van uw dossier in de vergadering van de CCD.

Wanneer een beslissing

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

Meer informatie

Heeft u vragen? Kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl voor meer informatie. U kunt ook een e-mail sturen naar info@zbo-ccd.nl. Of bel ons op: 088 042 1000.

Met vriendelijke groet,

Namens de Centrale Commissie Dierproeven

5.1.2.e

Dit bericht is automatisch gegenereerd en bevat daarom geen handtekening.

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Datum
23 april 2026

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD 5.1.2.e 202619186

Antwoord op vragen van de CCD betreffende aanvraagprojectvergunning
dierproeven AVD50200202619186

Niet technische samenvatting.

- In de excel versie van de NTS is het doel van het project toegevoegd en in overeenstemming gebracht met het projectvoorstel
- De termen “beenmergbiopt”, “beenmergpuntie” en “intraveneus” zijn nu anders omschreven in de NTS.
- Onder het lot van in leven gehouden dieren is nu toegevoegd dat deze zullen worden ingezet bij andere experimenten.

Onduidelijkheden.

- De leges zullen zo spoedig mogelijk worden overgemaakt.



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 93118
2509 AC Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
088 042 1000
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD 5.1.2.e 202619186

Bijlagen

3

5.1.2.e

5.1.2.e

5.1.2.e

5.1.2.e

5.1.2.e

Datum : 7 mei 2026

Betreft : Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 5.1.2.e 5.1.2.e

Op 18 maart 2026 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Preclinical testing of CD117xCD3 BiTE for safe bone marrow conditioning prior to stem cell transplantation" met aanvraagnummer AVD 5.1.2.e 202619186. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed. Uit artikel 10a, eerste lid van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) volgt daarom dat het is toegestaan om uw project uit te voeren binnen de gestelde vergunningsperiode. Deze vergunning wordt afgegeven voor de periode van 1 juni 2026 tot en met 31 mei 2028.

Aan de vergunning hebben wij de volgende voorwaarde verbonden op grond van artikel 10a1, tweede lid van de wet.

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt. Daarom bent u verplicht om na afloop van de vergunning in een Beoordeling achteraf over uw project te rapporteren. Deze beoordeling zal uiterlijk mei 2029 plaatsvinden. Er zal dan conform artikel 10a2, derde lid van de wet, beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt.

De onderbouwing van deze beslissing vindt u onder 'Overwegingen'.

Procedure

Advies dierexperimentencommissie

Wij hebben advies gevraagd bij de dierexperimentencommissie DEC 5.1.2.e (hierna: DEC). Dit advies is ontvangen op 17 april 2026.

Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, derde lid van de wet.

Nadere vragen aanvrager

Op 23 april 2026 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft tijdig antwoord gegeven.

De aanvullingen hadden betrekking op de niet-technische samenvatting.
Uw reactie is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Overwegingen

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de DEC, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

Datum
7 mei 2026

Onze referentie
AVD 5.1.2.e)202619186

Beoordeling achteraf

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt. Daarom bent u verplicht om na afloop van de vergunning in een Beoordeling achteraf over uw project te rapporteren. Deze beoordeling zal uiterlijk mei 2029 plaatsvinden. Er zal dan conform artikel 10a2, derde lid van de wet, beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen. Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 93118, 2509 AC Den Haag.

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

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. Nadat u een bezwaarschrift heeft ingediend kunt u een voorlopige voorziening vragen bij de voorzieningenrechter van de rechtbank in de vestigingsplaats van de vergunninghouder. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisende situatie.

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

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl, stuur een e-mail naar info@zbo-ccd.nl of neem telefonisch contact met ons op: 088-0421000.

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

5.1.2.e

Drs. M.J.K. van Butselaar
Algemeen Secretaris

Bijlagen:

- Projectvergunning
- DEC-advies
- Weergave wet- en regelgeving

Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam instelling of organisatie: 5.1.2.e
Straat en huisnummer: 5.1.2.e
5.1.2.e 5.1.2.e
Deelnemersnummer NVWA: 5.1.2.e

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 juni 2026 tot en met 31 mei 2028, voor het project "Predclinical testing of CD117xCD3 BiTE for safe bone marrow conditioning prior to stem cell transplantation" met aanvraagnummer AVD 5.1.2.e 202619186, na advies van dierexperimentencommissie 5.1.2.e De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Sectiehoofd.

Het besluit is gebaseerd op de volgende (aangepaste) stukken:

1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 18 maart 2026

2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:

a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 17 april 2026;

b Bijlagen dierproeven:

- 3.4.3.1. Validation of CD117xCD3 BiTE for in vivo half-life, safety, stem cell depletion capacity, and efficacy of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, zoals ontvangen op 17 april 2026;
- 3.4.3.2. Donor bone marrow collection, zoals ontvangen op 17 april 2026;
- c Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 1 mei 2026;
- d Advies van dierexperimentencommissie, zoals ontvangen op 17 april 2026.
- e De aanvullingen op uw aanvraag, zoals ontvangen op 1 mei 2026

Naam proef	Diersoort / Stam	Aantal dieren	Ongerief	Overige opmerkingen
3.4.3.1. Validation of CD117xCD3 BiTE for in vivo half-life, safety, stem cell depletion capacity, and efficacy of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	10	100,0% Matig	
3.4.3.2. Donor bone marrow collection				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	20	100,0% Matig	

Voorwaarde

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt. Daarom bent u verplicht om na afloop van de vergunning in een Beoordeling achteraf over uw project te rapporteren. Deze beoordeling zal uiterlijk mei 2029 plaatsvinden. Er zal dan conform artikel 10a2, derde lid van de wet, beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt.

Geldende voorschriften

Wij wijzen u op onderstaande geldende voorschriften, die volgen uit artikel 1d, vierde lid, artikel 10, eerste lid en/of artikel 10a3 van de wet.

- Go/ no go momenten worden voor aanvang van elk experiment afgestemd met de IvD.
- Het is verboden een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is.
- Het is verboden dierproeven te verrichten voor een doel waarvan het belang niet opweegt tegen het ongerief dat aan het proefdier wordt berokkend.
- Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de Dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g, derde lid van de wet. Uit artikel 10b, eerste lid van de wet volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5, eerste lid van de wet de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven. Artikel 10b, tweede en derde lid van de wet schrijven voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister een ontheffing is verleend.

Verzorging

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 van de wet staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Aanvraagnummer:
AVD ^{5.1.2.e} 202619186

Einde van een dierproef

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

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

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

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

Levensloofdossier

Voor iedere hond, kat en niet-menselijke primate moet volgens artikel 15a van de wet een levensloofdossier bijgehouden worden.

Niet-menselijke primaten

De Minister heeft een ontheffing verleend volgens artikel 10e, zevende lid van de wet, die het gebruik van niet-menselijke primaten toestaat voor een periode van maximaal vijf jaar.

Beoordeling achteraf

Volgens artikel 10a1, eerste lid onder d en derde lid van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld.

Format Niet technische samenvatting

Let op: bij gebruik van dit word-format dient uiteindelijk alsnog het Excel-format te worden ingevuld voordat uw aanvraag vergund kan worden (zie Procesbeschrijving word-document NTS). De NTS moet in het Nederlands zijn geschreven.

Tab NTS

Kolomnr. tabblad 1		
2	Land	NL
3	Taal	NL
4	Indiening bij EU	☒ yes ☐ no
5	Naam van het project	Het testen van de effectiviteit en veiligheid van een nieuwe methode voor beenmergtransplantatie.
6	NTS-identificatiecode	Deze wordt door de CCD ingevuld
7	Nationale identificatiecode van de NTS	Deze wordt door EC ingevuld
8	Duur van het project	2 jaar
9	Trefwoorden	
10	Trefwoord 1	beenmerg
11	Trefwoord 2	bestraling
12	Trefwoord 3	afweercellen
13	Trefwoord 4	resusaap
14	Trefwoord 5	antilichaam

Tabblad Doel(en) van het project

Omzettinggericht en toegepast onderzoek: Spier- en botaandoenigen bij de mens [PT27]

Fundamenteel onderzoek: Immuunstelsel [PB7]

15	Doel(en) van het project
17	Doelstellingen van het project
	<i>Beschrijf de doelstellingen van het project (bijvoorbeeld het aanpakken van bepaalde wetenschappelijke onduidelijkheden, of wetenschappelijke of klinische behoeften). Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.</i>
18	Het binnenste van onze botten bevat beenmerg. In het beenmerg bevinden zich stamcellen die verantwoordelijk zijn voor de aanmaak van ons bloed, welke bestaat uit rode en witte bloedcellen. Helaas kunnen de stamcellen in het beenmerg ziek worden wat kan leiden tot verschillende levensbedreigende ziektes zoals ernstige vormen van bloedarmoede, afweerstoornissen en leukemie (bloedkanker). Deze zieke beenmergcellen zijn helaas nog niet te genezen, deze cellen moeten worden gedood. Om deze zieke cellen in het beenmerg te doden, krijgen patiënten normaal gesproken chemotherapie of bestraling, of allebei. Echter, deze behandelingen zijn niet zonder gevaar. De patiënten zijn vaak al verzwakt en hebben een hoog risico op levensbedreigende infecties. Bovendien kan weefselschade optreden, waardoor deze behandelingen ook nog effecten op latere leeftijd kunnen veroorzaken, zoals hartfalen, onvruchtbaarheid of kanker. Een oplossing voor deze bijwerkingen is de ontwikkeling van specifieke medicijnen die de zieke stamcellen uit het beenmerg van de patiënt doden en verwijderen. Hierdoor komt er ruimte in het beenmerg vrij voor nieuwe gezonde stamcellen. Deze nieuwe gezonde stamcellen maakt

	ons lichaam niet zelf aan, die zullen aan patiënten moeten worden toegediend via een stamceltransplantatie van een gezonde persoon (donor). Na de transplantatie van gezonde donorstamcellen zullen deze stamcellen in het beenmerg gezonde bloedcellen aanmaken. Patiënten zullen via deze techniek genezen met naar verwachting minimale bijwerkingen. Wij hebben recentelijk een nieuw type antilichaam ontwikkeld als medicijn en dit met succes in zieke muizen getest. Voordat dit zeer belovende medicijn bij mensen kan worden gebruikt, is bij diersoorten die dicht bij de mens staan, zoals apen, verplicht. In dit onderzoek moet worden bewezen dat de behandeling met onze antilichamen zowel veilig als effectief is. Een specifiek risico dat we moeten onderzoeken, is of het antilichaam bepaalde afweercellen activeert. Als dat gebeurt kan mogelijk een heftige ontstekingsreactie optreden een 'cytokinestorm'. Dit kan leiden tot levensbedreigende situaties, zoals verstoring van ademhaling, hartritme en orgaanfalen. Omdat het afweersysteem van de resusaap in grote mate overeen met de mens, is dit de meest betrouwbare manier om deze risico's in kaart te brengen. Wanneer deze testen in apen succesvol zijn, verwachten wij deze antilichamen op korte termijn in mensen te kunnen testen.
--	---

19	Potentiële voordelen die dit project kan opleveren <i>Welke potentiële voordelen kan dit project opleveren? Leg uit hoe de wetenschap vooruit kan worden geholpen of mensen, dieren of het milieu uiteindelijk voordeel kunnen hebben bij het project. Maak, waar van toepassing, een onderscheid tussen voordelen op korte termijn (binnen de looptijd van het project) en voordelen op lange termijn (die mogelijk pas worden bereikt nadat het project is afgerond). Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.</i>
20	Deze nieuwe patiëntgerichte aanpak maakt het mogelijk om zieke beenmergcellen te verwijderen zonder de huidige levensbedreigende bijwerkingen. Omdat chemotherapie en/of bestraling van het beenmerg niet meer nodig zal zijn, verdwijnt voor patiënten het verhoogde risico op hartfalen, onvruchtbaarheid of kanker op latere leeftijd. Bovendien biedt deze methode hoop aan een kwetsbare groep: patiënten die nu niet kunnen worden bestraald of een chemotherapie ondergaan, omdat ze te zwak zijn om deze zware behandeling te kunnen doorstaan. Zij komen nu vaak niet in aanmerking voor een genezende behandeling. Wij verwachten met onze antilichamen deze patiënten te kunnen genezen, of hen in ieder geval een betere kwaliteit van leven en langere levensverwachting te kunnen bieden.

Voorspelde schade

22	In welke procedures worden de dieren gewoonlijk gebruikt <i>In welke procedures worden de dieren gewoonlijk gebruikt (bijvoorbeeld injecties, chirurgische procedures)? Vermeld het aantal en de duur van deze procedures. Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.</i>
23	De dieren ondergaan de volgende handelingen onder verdoving: 1) Injectie in de spier en de bloedbaan, 2) Bloedafnames, 3) Beenmergpunctie, 4) Monitoren van lichaamstemperatuur en hartritme. Voor het meten van de lichaamstemperatuur wordt een kleine sensor in de buikholte aangebracht. Hierdoor kan de temperatuur constant worden gemeten en nadelige effecten van de behandeling beter worden gevolgd. Dieren krijgen eerst een injectie in de bloedbaan met antilichamen (CD117xCD3 BiTE). Vervolgens worden er op vaste tijdstippen bloedmonsters afgenomen. In dit bloed zal onder andere de concentratie van CD117xCD3 BiTE worden bepaald en wordt gekeken naar afwijkingen die kunnen wijzen op ontsteking of onverwachte effecten op de organen. Hierbij zullen ook de lichaamstemperatuur en het hartritme worden gemeten en wordt gekeken naar eventuele andere bijwerkingen. De dieren

	zullen ook een beenmergbiopsie ondergaan om de effectiviteit van de behandeling vast te kunnen stellen. Vervolgens wordt gekeken of het geven van gezonde stamcellen uit een donoraap leidt tot succesvolle vorming van nieuwe stamcellen in het beenmerg en of daaruit ook weer de juiste typen bloedcellen ontstaan. Deze cellen zouden echter kunnen worden afgestoten door de lichaamseigen bloedcellen. Deze lichaamseigen bloedcellen moeten daarom eerst worden verwijderd door het geven van drie intraveneuze injecties met antilichamen (ATG). Daarna krijgen de dieren via injectie in de bloedbaan een gezonde donorstamcellen van gezonde resusapen. Hieruit zullen dan nieuwe beenmergstamcellen en bloedcellen ontstaan. Deze bloedcellen kunnen echter gaan reageren tegen de lichaamseigen cellen, een probleem dat veel voorkomt bij stamceltransplantatie. Dit heet graft versus host disease (GvHD), een soort omgekeerde afstotingsreactie. Om dit te onderdrukken volgt drie dagen na de transplantatie een behandeling met cyclofosfamide. Met deze procedure wordt zoveel mogelijk de klinische praktijk bij beenmergtransplantaties gevolgd. Er zullen na de transplantatie op verschillende tijdstippen bloed- en beenmergmonsters worden afgenomen om te bevestigen dat de transplantatie gelukt is. De dieren kunnen tijdens deze behandeling gevoelig worden voor infectie. Ze krijgen dan antibiotica toegediend en zullen tijdelijk alleen zitten, zonder hun kooimaatje. Aan het eind van de studie worden de dieren gedood om te kunnen zien of er eventueel schadelijke effecten in de organen zijn opgetreden.
--	---

24	Verwachte gevolgen/nadelige effecten voor de dieren <i>Wat zijn de verwachte gevolgen/nadelige effecten voor de dieren, bijvoorbeeld pijn, gewichtsverlies, inactiviteit/verminderde mobiliteit, stress, abnormaal gedrag, en wat is de duur van die effecten? Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.</i>
25	Alle handelingen zullen onder verdoving plaatsvinden. Het ongerief van deze studie komt door: 1) Verdoving (licht ongerief): de dieren moeten nuchter blijven voor de sedatie (waarbij drinkwater vrij beschikbaar blijft). Het in slaap vallen en weer wakker worden veroorzaakt licht ongerief. 2) Intraveneuze en intramusculaire injecties (matig ongerief). 3) Bloedafnames (matig ongerief): doordat wij streng zullen toezien dat er niet te veel bloed wordt afgenomen zullen de apen van de bloedafname zelf minimaal ongerief ondervinden. 4) Medische ingrepen (matig ongerief): bij de beenmergpunctie het inbrengen en verwijderen van de temperatuur sensor zullen de dieren extra pijnstilling krijgen. 5) Mogelijke bacteriële infecties: de dieren worden dan met antibiotica behandeld (matig ongerief). 6) Mogelijke bijwerkingen (licht ongerief): Er is een kleine kans dat de antilichamen een reactie veroorzaken zoals koorts of afwijkend hartritme. Dit kunnen tekenen zijn van een mogelijk allergische reactie. Hoewel we dit niet verwachten, zullen de dieren direct behandeld worden met medicijnen (antihistaminica en corticosteroïden) als ze een reactie zouden krijgen. Hierdoor zullen de dieren, als er al bijwerkingen optreden, maar beperkt last hebben van deze bijwerking. 7) Tijdelijke zonder kooimaatje in een kooi zitten (matig ongerief). Hoewel de meeste handelingen in deze studie onder verdoving plaatsvinden en de dieren dus geen voortdurende pijn lijden, valt de totale belasting van dit onderzoek in de categorie 'matig ongerief'. Dit komt door de optelsom van alle handelingen.

Tabblad Verwachte schade

Welke soorten en aantallen dieren zullen naar verwachting worden gebruikt? Wat zijn de verwachte ernstgraden en de aantallen dieren in elke ernstcategorie (per soort)?

Geraamde aantallen naar ernstgraad					
<i>Verplicht! Vul het blad "Verwachte schade" in. Gelieve ten minste één rij in te vullen!</i>					
Soort:	Terminaal	Licht	Matig	Ernstig	Totaal
Rhesusapen (<i>Macaca mulatta</i>) [A21]			30		
Kies een soort					
Kies een soort					
Kies een soort					
Kies een soort					

Tabblad Lot van in leven gehouden dieren

Wat gebeurt er met de dieren die aan het einde van de procedure in leven worden gehouden?

Geraamd aantal te hergebruiken, in habitat-/houderijsysteem terug te plaatsen of voor adoptie vrij te geven dieren			
<i>Vul het blad "Lot van in leven gehouden dieren" in, indien van toepassing</i>			
Species	Hergebruik	Teruggeplaatst	Geadopteerd
Rhesusapen (<i>Macaca mulatta</i>) [A21]	24		
Kies een soort			
Kies een soort			
Kies een soort			
Kies een soort			

27	Lot van in leven gehouden dieren
28	Redenen voor het geplande lot van de dieren na de procedure
	<i>Geef de reden voor het geplande lot van de dieren na de procedure. Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.</i>
29	Een deel van de dieren blijft na afloop in leven. Echter dieren die de behandeling met de nieuwe antilichamen (CD117xCD3 BiTE) hebben ondergaan worden na afloop van het experiment gedood om te onderzoeken of er schadelijke effecten in de organen zijn opgetreden.

Toepassing van de drie V's

31	1. Vervanging
	<i>Beschrijf welke diervrije alternatieven op dit gebied voorhanden zijn en waarom zij niet voor het project kunnen worden gebruikt. Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.</i>
32	Het antilichaam CD117xCD3 BiTE is uitvoerig en met succes getest in kweeschalen. Echter, antilichaam-gebaseerde immuuntherapie is afhankelijk van de complexe leefomgeving van de doelcellen, in dit geval in specifieke stamcellen in het beenmerg en de activiteit van ons immuunsysteem. Daarom kunnen de activiteit en bijwerkingen van CD117xCD3 BiTE alleen goed worden onderzocht in een levend dier. Wij hebben CD117xCD3 BiTE al getest in muizen die menselijke bloedstamcellen hadden in hun beenmerg. Deze resultaten waren goed. Echter, in de muis kan niet de uiteindelijke activiteit van CD117xCD3 BiTE zoals bij de mens worden bepaald. Bovendien kan in de muis, omdat doelantigeen van het antilichaam niet in deze dieren voorkomt niet de mogelijke bijwerkingen van CD117xCD3 BiTE op andere weefsels en organen worden onderzocht. Ook is het risico op bijwerkingen niet volledig te onderzoeken in een muis omdat de daarbij betrokken menselijke bloedceltypes minder of niet aanwezig zijn. Het bepalen van de activiteit van CD117xCD3 BiTE en het kunnen uitsluiten van eventuele bijwerkingen is essentieel om CD117xCD3 BiTE in patiënten te kunnen toedienen. Daarom kunnen wij niet anders dan eerst ons onderzoek voortzetten in een diemodel zoals de resusaap. Uit de resusaap krijgen wij relevante onderzoeksresultaten voor wat er in de mens kan worden

	verwacht. Belangrijk is te melden dat we met celkweken al hebben ontdekt dat CD117xCD3 BiTE kruis-reageert met de doelcellen in de resusaap.
--	--

33	2. Vermindering <i>Leg uit hoe de aantallen dieren voor dit project zijn behaald. Beschrijf de stappen die zijn genomen om het aantal te gebruiken dieren te verminderen en de beginselen die zijn gebruikt bij het opzetten van de studies. Beschrijf, waar van toepassing, de praktijken die gedurende het hele project zullen worden toegepast om het aantal dieren die in overeenstemming met de wetenschappelijke doelstellingen werden gebruikt, tot een minimum te beperken. Deze praktijken kunnen bijvoorbeeld bestaan uit proefprojecten, computermodellen, het delen van weefsel en hergebruik. Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.</i>
34	Om de belasting voor de dieren zo laag mogelijk te houden en het aantal benodigde dieren te beperken, maken wij gebruik van geavanceerde micro-methodes. Hiermee kunnen we uit één klein bloedmonster een enorme hoeveelheid gegevens halen. Zo bepalen we niet alleen de halfwaardetijd van het medicijn (hoelang het in het lichaam blijft), maar meten we tegelijkertijd of er moleculen vrijkomen die wijzen op een beginnende ontstekingsreactie. Als beenmergdonor kunnen gezonde apen vaker worden gebruikt wat het totaal aantal beenmergdonoren zoveel mogelijk beperkt houdt.

35	3. Verfijning <i>Geef voorbeelden van de specifieke maatregelen (bv. Verscherpte monitoring, postoperatieve behandeling, pijnbestrijding, training van dieren) die in verband met de procedures moeten worden genomen om de welzijnskosten (schade) voor de dieren tot een minimum te beperken. Beschrijf de mechanismen om gedurende de looptijd van het project nieuwe verfijningstechnieken in gebruik te nemen. Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.</i>
36	Door het gebruik van micro-methodes kunnen we uit een minimaal bloedvolume alle benodigde informatie halen, waardoor de afnamehoeveelheden zo klein als mogelijk blijven. Alle dieren hebben een vastgesteld trainingsprogramma waarbij de dieren zoveel mogelijk worden getraind om aan de handelingen die gerelateerd zijn aan de verdovingen te wennen en liefst mee te werken. Voor en na de beenmergpunctie en de operatieve ingreep voor het plaatsen en eventueel verwijderen van de temperatuur sensor zal er extra pijnstilling worden toegediend om de pijn die erbij betrokken is zoveel mogelijk te beperken. Tijdens en na de behandeling met de nieuwe antilichamen (CD117xCD3 BiTE) zullen de dieren extra goed in de gaten worden gehouden op het optreden van bijwerkingen. Tijdens de verdovingen zullen ook de lichaamstemperatuur en hartritme worden gemonitord. Mochten er bijwerkingen optreden, dan zullen de dieren gelijk goed worden behandeld om deze tegen te gaan om het ongerief te beperken.

37	Licht de keuze van de soorten en de bijbehorende levensstadia toe <i>Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.</i>
38	Uit ons laboratoriumonderzoek blijkt dat de resusaap op zijn bloedstamcel precies hetzelfde 'aanknooppunt' (target antigen) heeft als de mens. Wij hebben in kweekschalen al aangetoond dat ons antilichaam (CD117xCD3 BiTE) een perfecte kruisreactie vertoont met de cellen van de apen; het medicijn herkent de apencel dus net zo goed als de menselijke cel.

Dit is van cruciaal belang, omdat het antigeen bij de resusaap op dezelfde organen en weefsels voorkomt als bij de mens. Gecombineerd met een afweersysteem dat sterk op dat van de mens lijkt, is de resusaap de enige diersoort die op betrouwbare wijze kan voorspellen of het medicijn veilig is voor patiënten. De onderzoeksresultaten zijn onmisbaar voordat we kunnen starten met het testen van dit medicijn bij mensen.

Volwassen resusapen (*Macaca mulatta*) zullen worden gebruikt.



Advies aan CCD

Datum: 23 april 2026
Betreft: Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven AVD202619186

Instelling: 5.1.2.e
Onderzoeker: 5.1.2.e
Titel project: Preclinical testing of CD117xCD3 BiTE for safe bone marrow conditioning prior to stem cell transplantation

Aanvraagnummer: AVD202619186
Betreft: Nieuwe aanvraag
Categorieën: Translationeel of toegepast onderzoek

1 Doelstellingen & belang van het project

Doelstelling	Citaat: The ultimate goal is to use CD117xCD3 BiTE for efficient depletion of hematopoietic stem and progenitor cells from the bone-marrow, with less side effects than the current bone-marrow conditioning protocols, to enable hematopoietic stem cell transplantation with healthy donor stem cells in humans. Immediate goals: Although not observed in humanized mouse models, potential adverse effects will be assessed e.g. a. T cell mediated immune therapies may cause cytokine release syndrome (CRS) and/or mast cell activation syndrome (MCAS). We will investigate whether PTM- CD117xCD3 BiTE causes symptoms of CRS and MCAS such as fever, dyspnoea, cardiovascular adverse effects, and diarrhoea in the rhesus macaques. b. Potential adverse events caused by depletion of CD117-positive cell populations will be investigated by blood sampling, clinical monitoring and histology. Bone marrow and blood samples will be analysed for hematopoietic stem cell depletion, frequency and activity of the various T cell subsets and cytokine inductions. Establishing the efficiency of hematopoietic stem cell transplantation post-CD117xCD3 BiTE treatment. Together, these experiments will give invaluable insights in the capacity of CD117xCD3 BiTE for safe bone marrow conditioning and rapid hematopoietic stem cell transplantation. De doelen van het project zijn realistisch en haalbaar.
---------------------	---

Wetenschappelijk en maatschappelijk belang	Citaat: Social relevance: Bone marrow diseases, such as leukemia, are one of the main causes of morbidity and mortality in the World. People who suffer from these diseases do not only have a significantly lower quality of life due to the direct effects of their illness, but they also often cannot go to school or have a stable job and are unable to properly participate in society. Routine care for people with leukemia, is by itself expensive, but a far greater economic burden is the hospital care required to treat serious complications, which include heart failure, higher risk on cancer, and infertility. Major costs to society include lost economic productivity, as people take time off because of illness and retire earlier, and the expense of social care. Notably, the expected pre-clinical data on safety of CD117xCD3 BiTE treatment in rhesus macaques will ultimately allow the initiation of phase-I clinical trials in which the reagent will be tested as a novel bone marrow-conditioning regimen in adult and juvenile patients with haematological disorders and malignancies at 5.1.2.e and other (inter-)national institutes. The scientific relevance of this project is depleting the bone marrow of diseased hematopoietic stem cells to enable stem cell transplantation with healthy (donor) stem cells in a non-toxic fashion in both benign and malignant hematopoietic disorders. Due to severe toxicity of current bone marrow conditioning protocols subsets of patients cannot be transplanted or experience adverse effects at the short and long term. We will establish successful protocols for hematopoietic stem cell transplantation.
Belangenverstrengeling	Geen van de medewerkers van het Secretariaat heeft een arbeidsrelatie gehad met de aanvrager die minder dan 5 jaar geleden is beëindigd of heeft andere belangen die mogelijk zouden kunnen leiden tot oneigenlijke beïnvloeding.
Maatschappij	Er wordt verwacht dat het onderwerp in die mate politiek of maatschappelijk gevoelig is, dat eventuele extra communicatie uitingen nodig zijn. Het gebruik van non-humane primaten.

Het belang is voldoende uitgewerkt en onderbouwd.

2 Kwaliteit Synthesis of Evidence

Kwaliteit SoE	Voorwerk is voldoende beschreven. Er is aannemelijk gemaakt dat het model geschikt is voor het gestelde doel.
Diermodel	Citaat bijlage dierproeven 1: Rhesus macaque As our reagent doesn't cross-react with mouse CD117, the targeting of CD117-expressing cells in other tissues than the humanized bone marrow is not captured in humanized mice. In addition, pre-clinical mouse models do not have the same immune cell distribution compared to human. Therefore, potential CD117xCD3 BiTE -induced adverse effects due to depletion of CD117-expressing cells other than hematopoietic stem cells or cytokine release syndrome cannot be fully investigated in mouse models. Non-human primates such as rhesus macaques are the only other well-characterized species in which CD117 cross-reacts with CD117xCD3 BiTE.

	Rhesus macaques express CD117 at levels comparable to human, in the same tissues and on the same cell types. In addition, the human CD117 protein is well-conserved in rhesus macaques. We have shown that CD117xCD3 BiTE reagent cross-reacts with rhesus macaque CD117 and CD3 expressed on T cells. For that reason, validation studies in non-human primates are needed to ensure safety of CD117xCD3 BiTE in humans. Moreover, rhesus macaques, like humans, exhibit genetic diversity, which makes this model more relevant, and better reflects the human situation. Therefore, our expected results are highly relevant for the translation of the bone marrow conditioning and hematopoietic stem cell transplantation results to the human situation.
--	--

3 3V's (Vervanging, Vermindering & Verfijning)

Er is in voldoende mate onderbouwd dat de doelstelling niet zonder dieren behaald kan worden en voldoende duidelijk is ingegaan op het "nee, tenzij..." beginsel.
--

Er is in voldoende mate onderbouwd dat het project met zo min mogelijk dieren en zo verfijnd mogelijk wordt uitgevoerd.
--

4 DEC advies

DEC advies	Citaten uit het DEC advies: C9: x Niet-menselijke primaten (10e) x Hergebruik (1e, lid 2) De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op de vergelijkbare expressie van CD117 bij de aap, dit in tegenstelling tot gehumaniseerde muizen. Daardoor zal een vertaling naar de klinische situatie mogelijk zijn. Voor de voorgestelde studies kunnen in principe dieren gebruikt worden die al eerder in een andere studie zijn gebruikt. Hergebruik zal plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in de Wet op de Dierproeven. C10: De huisvesting en verzorging voldoet aan de vereisten in bijlage III. Het kan voorkomen dat een dier in de proef door een verzwakt immuunsysteem een infectieziekte oploopt. In dat geval zal zo'n dier individueel (met de voormalige kooigenoot binnen zicht, geur en gehoor) gehuisvest worden. De DEC acht de kans hierop klein. Hoewel de bloedstamcellen zullen worden gedood met CD117xCD3 BiTE, is de verwachting dat dit niet volledig zal zijn, waardoor er in de periode direct na de behandeling toch nieuwe bloedcellen kunnen worden aangemaakt. Ook de ATG behandeling kan het immuunsysteem onderdrukken. In het verleden is veel ervaring met ATG binnen het instituut opgebouwd zonder dat dit tot significante opportunistische infecties heeft geleid. C11: Het ongerief wordt veroorzaakt door de experimentele technieken, de toegediende middelen en de klinische symptomen ten gevolge deze middelen en de getransplanteerde stamcellen. Er wordt een uitgebreide klinische scoringslijst gebruikt om tijdig te kunnen ingrijpen en de dieren zo nodig te doden om te voorkomen dat er ernstig ongerief optreedt.
--------------------------	---

	Niet alle dieren zullen alle met ongerief gepaard gaande handelingen ondergaan. Zo zal bij een individueel dier antibiotica behandeling en solitaire huisvesting alleen worden toegepast indien een (bacteriële) infectie dit vereist. De inschatting van het cumulatieve ongerief wordt terecht als matig ingeschat voor alle dieren onder andere door de helder ingerichte humane eindpunten. C13: Naar de mening van de DEC zijn de humane eindpunten zorgvuldig beschreven. Aan de hand van een uitgebreide klinische scoringslijst, die twee keer per dag wordt ingevuld, wordt bepaald of een humaan eindpunt wordt bereikt. De kans dat dieren een humaan eindpunt bereiken wordt ingeschat op maximaal 10% van de dieren die een stamceltransplantatie ondergaan. Voor de donor dieren worden geen humane eindpunten verwacht omdat bij deze dieren alleen beenmerg wordt afgenomen waarbij geen complicaties worden verwacht. Gezien de aard van de experimenten is de DEC het eens met deze inschatting. C20: De dieren uit bijlage 1 worden gedood om wetenschappelijke reden. Hergebruik van de dieren uit bijlage 2 is mogelijk. Hergebruik zal plaats vinden binnen de kaders omtrent dierenwelzijn en wetenschappelijke criteria ten aanzien van de dierproef. Ethische afweging van de DEC: Citaat: 1) Rechtvaardigt het testen van een potentieel veiliger en minder toxische methode als voorbehandeling voor stamceltransplantatie gebaseerd op middel CD117xCD3 BiTE het ongerief dat niet-humane primaten in dit onderzoek wordt aangedaan? En is het gebruik van maximaal 30 (10 stamcel ontvangers en 20 stamcel donoren) niet-humane primaten wetenschappelijk noodzakelijk om deze veiligheids- en werkzaamheidsgegevens te verkrijgen, of kunnen vergelijkbare inzichten worden verkregen met alternatieve onderzoeksmodellen, zoals andere proefdier-soorten of niet-dierlijke methoden? 2) Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en de autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te laten ondergaan. Ze zullen matig ongerief ondervinden door de behandelingen en enige pijn ondervinden door bloed- en beenmergafnames en injecties. De dieren hebben er baat bij hiervan gevrijwaard te blijven. De waarde voor patiënten is dat er een minder agressieve vorm komt om hen voor te bereiden op het ontvangen van een allogene beenmerg transplantaat. Hierdoor zullen deze patiënten sneller herstellen van deze ingreep en zal hun kwaliteit van leven beter zijn dan met de nu gebruikelijk methodes om hen voor te bereiden op stamceltransplantatie. Ook komen meer patiënten (zoals immunodeficiëntie, sikkelcel anemie) in aanmerking voor de te ontwikkelen behandeling dan de voor de klassieke methode het geval is. De waarden voor de samenleving is dat de patiënten sneller kunnen terugkeren naar de maatschappij en dat daarmee ook de belasting voor de zorg zal verminderen. Ook zullen de patiënten op de lange termijn minder zorgbehoeftes hebben. De DEC is van mening dat deze belangen van patiënten en samenleving een groot belang vertegenwoordigen De waarde voor het onderzoeksveld is dat er meer kennis komt over het gebruik van CD117xCD3 BiTE om bloedstamcellen te elimineren. De waarde van de producent van CD117xCD3 BiTE is een economische.
--	--

	Voor de onderzoekers geldt dat het publiceren van belangrijke nieuwe wetenschappelijke inzichten resulteert in een goede wetenschappelijke reputatie, wat vaak de sleutel is voor het verkrijgen van nieuwe onderzoeksmiddelen en mogelijkheden. Carrièremogelijkheden en status kunnen door de onderzoeker en de onderzoeksinstelling zelf van belang geacht worden (en een drijfveer zijn), maar dienen naar de mening van de DEC geen rol te spelen in de ethische afweging over de toelaatbaarheid van het gebruik van proefdieren. Het gaat uiteindelijk om de vraag of dit onderzoek belangrijke wetenschappelijke en maatschappelijke doelen dient (kennis, gezondheid). Ditzelfde geldt voor het uiteindelijke economische belang van de industrie. 3) De DEC concludeert dat de belangen van de patiënten en de samenleving die worden nagestreefd in dit project zwaarder wegen dan de belangen van de betrokken proefdieren. Het onderzoek is van groot belang voor mensen die een stamceltransplantatie moeten ondergaan wegens een ziekten van de bloedcellen, benigne of maligne. Jaarlijks wordt een dergelijk therapie toegepast bij 1,5 miljoen patiënten per jaar wereldwijd. Wanneer (in eerste instantie voor met name patiënten met een benige bloedziekte) een minder toxische voorbehandeling mogelijk is zal dit leiden tot een betere kwaliteit van leven voor deze patiënten en ook tot een vermindering van zorggebruik. De kennis en kunde van de aanvrager wordt onderbouwd door het feit dat het instituut een lange geschiedenis kent van het evalueren van middelen die het bloedcel systeem beïnvloeden, inclusief beenmergtransplantatie en immunosuppressie in niet-humane primaten. De haalbaarheid van de doelstellingen van dit project wordt als hoog ingeschat. Dit onderzoek kan alleen worden uitgevoerd in een diersoort waarbij de expressie van CD117 vergelijkbaar is met die bij de mens. Dit is alleen bij niet-humane primaten het geval en de resusaap voldoet aan dit criterium. Het belang van het onderzoek rechtvaardigt het gebruik van deze diersoort. De dieren zijn afkomstig uit eigen fok, de 3V-principes worden gehonoreerd door toepassing van vooronderzoek in gehumaniseerde muizen en in vitro analyse, hergebruik van dieren, en aangepaste voeding wanneer de dieren frequent gesedeerd moet worden. Humane eindpunten worden toegepast en zijn zorgvuldig beschreven aan de hand van een klinische scorelijst die 2x per dag wordt ingevuld. Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit doel en opzet van het project deze dierproeven rechtvaardigt. De DEC heeft extern advies ingewonnen bij Aanvrager Het DEC-advies is Verlenen onder Voorwaarden Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.
--	--

5 Kwaliteit DEC advies

Kwaliteit DEC advies	Het DEC advies is helder en navolgbaar. In het DEC advies is inzicht gegeven in de vragen die aan de aanvrager zijn gesteld. Bij de beantwoording van de beoordelvingsvragen verstrekt u een heldere onderbouwing. De ethische afweging volgt op logische wijze uit de beantwoording van de C vragen.
	Er zijn geen DEC leden uitgesloten van de behandeling van de aanvraag vanwege mogelijke belangenverstrengeling of betrokkenheid bij het project.

6 Beschrijving dieren

Tabel 1 Beschrijving dierproeven

Naam proef	Diersoort	Stam	Aantal dieren	Herkomst
3.4.3.1. Validation of CD117xCD3 BiTE for in vivo half-life, safety, stem cell depletion capacity, and efficacy of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)		10	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn, Niet menselijke primaten
3.4.3.2. Donor bone marrow collection				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)		20	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn, Niet menselijke primaten

Tabel 2 Ongerief en humane eindpunten

Naam proef		Opmerkingen
3.4.3.1. Validation of CD117xCD3 BiTE for in vivo half-life, safety, stem cell depletion capacity, and efficacy of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation	De humane eindpunten zijn voldoende beschreven.	
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ongerief 100,0% Matig	
3.4.3.2. Donor bone marrow collection	Er worden geen humane eindpunten verwacht.	
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ongerief 100,0% Matig	

Tabel 3 Doden van de dieren

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
3.4.3.1. Validation of CD117xCD3 BiTE for in vivo half-life, safety, stem cell depletion capacity, and efficacy of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation	Ja Citaat: Organs are collected for histopathological examination to detect possible adverse events of the treatment. Furthermore, due to the allogeneic HSCT severe GvHD may develop in time, which can cause serious health problems necessitating long term immune-suppressive treatments. Because of the cyclophosphamide treatment development of GvHD is unlikely to develop during the planned study period of maximum twelve weeks.	Ja
3.4.3.2. Donor bone marrow collection	Nee	

Tabel 4 Huisvesting en verzorging

3.4.3.1. Validation of CD117xCD3 BiTE for in vivo half-life, safety, stem cell depletion capacity, and efficacy of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation	
Hergebruik dieren	Citaat: Animals that will be used in these experiments have possibly been used in previous experiments. In view of the long life of the animals of this species re-use of animals will take place within the limitations described in art 1e of the Wet op de Dierproeven.
Huisvesting en verzorging anders dan Bijlage III Richtlijn	Citaat: Animals are temporarily single housed if they show signs of an infection or a decrease in general wellbeing that would necessitate a separation from their cage-mate. However, they can keep eye and sound contact with their cage mate and are reintroduced to each other as soon as they start to recover.
3.4.3.2. Donor bone marrow collection	
Hergebruik dieren	Citaat: If the animals have not previously been submitted to studies that have lasting effects on the bone marrow, they can be used for this appendix.

Tabel 5 Gebruik van geslachten

Naam proef		Opmerkingen
3.4.3.1. Validation of CD117xCD3 BiTE for in vivo half-life, safety, stem cell depletion capacity, and efficacy of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation	worden alle geslachten gebruikt?	
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ja	
3.4.3.2. Donor bone marrow collection	worden alle geslachten gebruikt?	
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ja	

Bijzonderheden dierproef

Er wordt gebruikgemaakt van non-humane primaten. Dit is in de ogen van het Secretariaat voldoende onderbouwd.

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

Proces	Er zijn geen aanvullende vragen gesteld aan de DEC. De volgende vragen zijn gesteld aan de aanvrager: - De doelcategorieën van uw NTS komen niet overeen met de doelcategorie genoemd in het projectvoorstel. Kunt u deze met elkaar in overeenstemming brengen? - In uw NTS onder de kop 'procedures' gebruikt u de termen 'beenmergbipt', 'beenmergpunctie' en 'intraveneus'. Kunt u deze termen voor het algemene publiek uitleggen, zodat de NTS ook voor dit publiek navolgbaar is? - In uw NTS onder de kop "geplande lot" staat niet vermeld wat er met de dieren gebeurt die in leven blijven. Kunt u dit toevoegen? - Uit onze administratie blijkt dat de leges nog niet zijn overgemaakt. Kunt u nagaan of de factuur reeds is betaald?
---------------	---

8 Samenvatting

Het projectvoorstel bevat voldoende informatie over het belang van het onderzoek, de strategie, de 3V's, het ongerief en de humane eindpunten om tot een oordeel te kunnen komen. Het DEC-advies kan als grondslag dienen voor het besluit.

De huisvesting is niet altijd volgens bijlage III van de Richtlijn 2010/63/EU. Wanneer dieren met een verzwakt immuunsysteem een infectieziekte oplopen, zullen deze dieren tijdelijk individueel gehuisvest worden. De dieren kunnen hun voormalig kooigenoot wel blijven zien, horen en ruiken. Wanneer het dier herstelt, worden ze weer samen gehuisvest. Het Secretariaat vindt dit voldoende onderbouwd.

Er kan sprake zijn van hergebruik. Er kunnen dieren worden ingezet die eerder in een andere studie zijn gebruikt. Daarnaast kunnen de dieren uit bijlage 2 later weer ingezet worden in een ander project. Het Secretariaat vindt dit voldoende onderbouwd.

In dit project worden non-humane primaten gebruikt. De inzet van deze diersoort is in de ogen van de DEC en het Secretariaat voldoende onderbouwd. Vanwege de inzet van non-humane primaten zal een voorwaarde in de vorm van een beoordeling achteraf gekoppeld worden aan de vergunning.

9 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning

Het Secretariaat volgt het DEC-advies.

Het Secretariaat adviseert dit project toe te wijzen. Voorstel is om de vergunning te verlenen van 1 juni 2026 tot en met 31 mei 2028.

Hierbij stelt het Secretariaat voor de volgende voorwaarden te stellen:

Beoordeling achteraf

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt. Daarom bent u verplicht om na afloop van de vergunning in een Beoordeling achteraf over uw project te rapporteren. Deze beoordeling zal uiterlijk mei 2029 plaatsvinden. Er zal dan conform artikel 10a2, derde lid van de wet, beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt.

NIET-TECHNISCHE PROJECTSAMENVATTING

Land	NL
Taal	nl
Indiening bij EU	ja [1]
Naam van het project	Het testen van de effectiviteit en veiligheid van een nieuwe
NTS-identificatiecode	
Nationale identificatiecode van de NTS	NTS202619186
Duur van het project	24 (in maanden)
Trefwoorden	
Trefwoord 1	beenmerg
Trefwoord 2	bestraling
Trefwoord 3	afweercellen
Trefwoord 4	resusaap
Trefwoord 5	antilichaam

Doel(en) van het project

Doelstellingen en verwachte voordelen van het project

Doelstellingen van het project

Het binnenste van onze botten bevat beenmerg. In het beenmerg bevinden zich stamcellen die verantwoordelijk zijn voor de aanmaak van ons bloed, welke bestaat uit rode en witte bloedcellen. Helaas kunnen de stamcellen in het beenmerg ziek worden wat kan leiden tot verschillende levensbedreigende ziektes zoals ernstige vormen van bloedarmoede, afweerstoornissen en leukemie (bloedkanker). Deze zieke beenmergcellen zijn helaas nog niet te genezen, deze cellen moeten worden gedood. Om deze zieke cellen in het beenmerg te doden, krijgen patiënten normaal gesproken chemotherapie of bestraling, of allebei. Echter, deze behandelingen zijn niet zonder gevaar. De patiënten zijn vaak al verzwakt en hebben een hoog risico op levensbedreigende infecties. Bovendien kan weefselschade optreden, waardoor deze behandelingen ook nog effecten op latere leeftijd kunnen veroorzaken, zoals hartfalen, onvruchtbaarheid of kanker.

Potentiele voordelen die dit project kan opleveren

Deze nieuwe patiëntgerichte aanpak maakt het mogelijk om zieke beenmergcellen te verwijderen zonder de huidige levensbedreigende bijwerkingen. Omdat chemotherapie en/of bestraling van het beenmerg niet meer nodig zal zijn, verdwijnt voor patiënten het verhoogde risico op hartfalen, onvruchtbaarheid of kanker op latere leeftijd.

Bovendien biedt deze methode hoop aan een kwetsbare groep: patiënten die nu niet kunnen worden bestraald of een chemotherapie ondergaan, omdat ze te zwak zijn om deze zware behandeling te kunnen doorstaan. Zij komen nu vaak niet in aanmerking voor een genezende behandeling. Wij verwachten met onze antilichamen deze patiënten te kunnen genezen, of hen in ieder geval een betere kwaliteit van leven en langere levensverwachting te kunnen bieden.

Voorspelde schade

In welke procedures worden de dieren gewoonlijk gebruikt

De dieren ondergaan de volgende handelingen onder verdoving: 1) Injectie in de spier en de bloedbaan, 2) Bloedafnames, 3) Beenmerg verzamelen uit een bot, 4) Monitoren van lichaamstemperatuur en hartritme. Voor het meten van de lichaamstemperatuur wordt een kleine sensor in de buikholte aangebracht. Hierdoor kan de temperatuur constant worden gemeten en nadelige effecten van de behandeling beter worden gevolgd. Dieren krijgen eerst een injectie in de bloedbaan met antilichamen (CD117xCD3 BITE). Vervolgens worden er op vaste tijdstippen bloedmonsters afgenomen. In dit bloed zal onder andere de concentratie van CD117xCD3 BITE worden bepaald en wordt gekeken naar afwijkingen die kunnen wijzen op ontsteking of onverwachte effecten op de organen. Hierbij zullen ook de lichaamstemperatuur en het hartritme worden gemeten en wordt gekeken naar eventuele andere bijwerkingen. Ook zal bij de dieren beenmerg worden afgenomen om de

Verwachte gevolgen/nadelige effecten voor de dieren

Alle handelingen zullen onder verdoving plaatsvinden. Het ongerief van deze studie komt door:

- Verdoving (licht ongerief): de dieren moeten nuchter blijven voor de sedatie (waarbij drinkwater vrij beschikbaar blijft). Het in slaap vallen en weer wakker worden veroorzaakt licht ongerief.
- Injecties in de bloedbaan en in een spier (matig ongerief).
- Bloedafnames (matig ongerief): doordat wij streng zullen toezien dat er niet te veel bloed wordt afgenomen zullen de apen van de bloedafname zelf minimaal ongerief ondervinden.
- Medische ingrepen (matig ongerief): bij het verzamelen van beenmerg uit bot en bij het inbrengen en verwijderen van de temperatuur sensor zullen de dieren extra pijnstilling krijgen.

Verwachte schade

Lot van in leven gehouden dieren

Redenen voor het geplande lot van de dieren na de procedure

Een deel van de dieren blijft na afloop in leven. Echter dieren die de behandeling met de nieuwe antilichamen (CD117xCD3 BITE) hebben ondergaan worden na afloop van het experiment gedood om te onderzoeken of er schadelijke effecten in de organen zijn opgetreden. De dieren die blijven leven zullen worden ingezet bij andere experimenten.

Toepassing van de drie V's

1. Vervanging

Het antilichaam CD117xCD3 BITE is uitvoerig en met succes getest in kweeschalen. Echter, antilichaam-gebaseerde immuuntherapie is afhankelijk van de complexe leefomgeving van de doelcellen, in dit geval in specifieke stamcellen in het beenmerg en de activiteit van ons immuunsysteem. Daarom kunnen de activiteit en bijwerkingen van CD117xCD3 BITE alleen goed worden onderzocht in een levend dier. Wij hebben CD117xCD3 BITE al getest in muizen die menselijke bloedstamcellen hadden in hun beenmerg. Deze resultaten waren goed. Echter, in de muis kan niet de uiteindelijke activiteit van CD117xCD3 BITE zoals bij de mens worden bepaald. Bovendien kan in de muis, omdat doelantigeen van het antilichaam niet in deze dieren voorkomt niet de mogelijke bijwerkingen van CD117xCD3 BITE op andere weefsels en organen worden onderzocht. Ook is het risico op bijwerkingen niet volledig te onderzoeken in een muis omdat de daarbij betrokken menselijke bloedceltypes minder of

2. Vermindering

Om de belasting voor de dieren zo laag mogelijk te houden en het aantal benodigde dieren te beperken, maken wij gebruik van geavanceerde micro-methodes. Hiermee kunnen we uit één klein bloedmonster een enorme hoeveelheid gegevens halen. Zo bepalen we niet alleen de halfwaardetijd van het medicijn (hoelang het in het lichaam blijft), maar meten we tegelijkertijd of er moleculen vrijkomen die wijzen op een beginnende ontstekingsreactie.

Als beenmergdonor kunnen gezonde apen vaker worden gebruikt wat het totaal aantal beenmergdonoren zoveel mogelijk beperkt houdt.

3. Verfijning

Door het gebruik van micro-methodes kunnen we uit een minimaal bloedvolume alle benodigde informatie halen, waardoor de afnamehoeveelheden zo klein als mogelijk blijven.

Alle dieren hebben een vastgesteld trainingsprogramma waarbij de dieren zoveel mogelijk worden getraind om aan de handelingen die gerelateerd zijn aan de verdovingen te wennen en liefst mee te werken.

Voor en na het verzamelen van beenmerg uit bot en de operatieve ingreep voor het plaatsen en eventueel verwijderen van de temperatuur sensor zal er extra pijnstilling worden toegediend om de pijn die erbij betrokken is zoveel mogelijk te beperken.

Licht de keuze van de soorten en de bijbehorende levensstadia toe

Uit ons laboratoriumonderzoek blijkt dat de resusaap op zijn bloedstamcel precies hetzelfde 'aanknooppunt' (target antigen) heeft als de mens. Wij hebben in kweeschalen al aangetoond dat ons antilichaam (CD117xCD3 BITE) een perfecte kruisreactie vertoont met de cellen van de apen; het medicijn herkent de apencel dus net zo goed als de menselijke cel.

Dit is van cruciaal belang, omdat het antigeen bij de resusaap op dezelfde organen en weefsels voorkomt als bij de mens. Gecombineerd met een afweersysteem dat sterk op dat van de mens lijkt, is de resusaap de enige diersoort die op betrouwbare wijze kan voorspellen of het medicijn veilig is voor patiënten. De onderzoeksresultaten zijn onmisbaar voordat we kunnen starten met het testen van dit medicijn bij mensen.

Voor een beoordeling achteraf geselecteerd project

Project geselecteerd voor BA?	ja [1]	
Termijn voor BA	31-05-2029	
Reden voor de beoordeling achteraf		
	Bevat ernstige procedures	
	Maakt gebruik van niet-menselijke primaten	ja [1]
	Andere reden	

Toelichting van de andere reden voor de beoordeling achteraf

Aanvullende velden

Nationaal veld 1	
Nationaal veld 2	
Nationaal veld 3	
Nationaal veld 4	
Nationaal veld 5	
Startdatum project	01-06-2026
Einddatum project	31-05-2028
Goedgekeuringsdatum project	
ICD-code 1	
ICD-code 2	
ICD-code 3	
Link naar de eerdere versie van de NTS buiten het EC-systeem	

Verplicht!

Verplicht!

Verplicht! Veld wordt niet gepubliceerd. Geef aan of het project al dan niet binnen het toepassingsgebied van de richtlijn valt.

Verplicht! Maximale lengte is 500 tekens.

Unieke, door het centrale EC-systeem toegekende NTS-identificatiecode. Alleen in te vullen wanneer de NTS al in het EC-systeem is opgeslagen.

Veld wordt niet gepubliceerd. Nationale identificatiecode van de NTS Maximale lengte is 500 tekens.

Verplicht! Duur van het project, uitgedrukt in maanden. Moet een heel getal tussen 1 en 60 zijn!

Verplicht! Er moet ten minste één trefwoord worden ingevoerd!

Maximale lengte is 50 tekens inclusief spaties. [126] uit meer dan één woord bestaan.

Maximale lengte is 50 tekens inclusief spaties. [126] uit meer dan één woord bestaan.

Maximale lengte is 50 tekens inclusief spaties. [126] uit meer dan één woord bestaan.

Maximale lengte is 50 tekens inclusief spaties. [126] uit meer dan één woord bestaan.

Maximale lengte is 50 tekens inclusief spaties. [126] uit meer dan één woord bestaan.

Verplicht! Vul het blad "3.2.6 van het project" in. Er moet ten minste één doel worden gekozen!

Beschrijf de doelstellingen van het project (bijvoorbeeld het aanpakken van bepaalde wetenschappelijke onduidelijkheden, of wetenschappelijke of klinische behoeften).

Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.

Welke potentiële voordelen kan dit project opleveren? Leg uit hoe de wetenschap vooruit kan worden geholpen of mensen, dieren of het milieu uiteindelijk voordeel kunnen hebben bij het project. Maak, waar van toepassing, een onderscheid tussen voordelen op korte termijn (binnen de looptijd van het project) en voordelen op lange termijn (die mogelijk pas worden bereikt nadat het project is afgerond).

Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.

In welke procedures worden de dieren gewoonlijk gebruikt (bijvoorbeeld injecties, chirurgische procedures)? Vermeld het aantal en de duur van deze procedures.

Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.

Wat zijn de verwachte gevolgen/nadelige effecten voor de dieren, bijvoorbeeld pijn, gewichtsverlies, inactiviteit/verminderde mobiliteit, stress, abnormaal gedrag, en wat is de duur van die effecten?

Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.

Welke soorten en aantallen dieren zullen naar verwachting worden gebruikt? Wat zijn de verwachte ernstgraden en de aantallen dieren in elke ernstcategorie (per soort)?

Verplicht! Vul het blad "Verwachte schade" in. Gelieve ten minste één rij in te vullen!

Wat gebeurt er met de dieren die aan het einde van de procedure in leven worden gehouden?

Vul het blad "3.2.6 van in leven gehouden dieren" in, indien van toepassing.

Geef de redenen voor het geplande lot van de dieren na de procedure.

Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.

Beschrijf welke diervrije alternatieven op dit gebied voorhanden zijn en waarom zij niet voor het project kunnen worden gebruikt.

Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.

Leg uit hoe de aantallen dieren voor dit project zijn bepaald. Beschrijf de stappen die zijn genomen om het aantal te gebruiken dieren te verminderen en de beginselen die zijn gebruikt bij het opzetten van de studies. Beschrijf, waar van toepassing, de praktijken die gedurende het hele project zullen worden toegepast om het aantal dieren die in overeenstemming met de wetenschappelijke doelstellingen werden gebruikt, tot een minimum te beperken. Deze praktijken kunnen bijvoorbeeld bestaan uit proefprojecten, computermodellen, het delen van weefsel en hergebruik.

Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.

Geef voorbeelden van de specifieke maatregelen (bv. verscherpte monitoring, postoperatieve behandeling, pijnbestrijding, training van dieren) die in verband met de procedures moeten worden genomen om de welzijnskosten (schade) voor de dieren tot een minimum te beperken. Beschrijf de mechanismen om gedurende de looptijd van het project nieuwe verfijningstechnieken in gebruik te nemen.

Verplicht! Maximale lengte is 2500 tekens.

Van toepassing op de lidstaten waar deze informatie krachtens de wetgeving vereist is.

Door de bevoegde autoriteit in te vullen!

Verplicht!

Verplicht! Formaat dd-mm-jjjj of dd/mm/jjjj afhankelijk van uw systeeminstellingen (bv. 27-05-2022 of 27/05/2022)

Verplicht! Er moet ten minste één reden worden gekozen!

Of het specifieke gebied al dan niet van toepassing is, hangt af van de nationale voorschriften.

Veld wordt niet gepubliceerd. Maximale lengte is 2500 tekens.

Veld wordt niet gepubliceerd. Maximale lengte is 2500 tekens.

Veld wordt niet gepubliceerd. Maximale lengte is 2500 tekens.

Veld wordt niet gepubliceerd. Maximale lengte is 2500 tekens.

Veld wordt niet gepubliceerd. Maximale lengte is 2500 tekens.

Veld wordt niet gepubliceerd. Formaat dd-mm-jjjj of dd/mm/jjjj afhankelijk van uw systeeminstellingen (bv. 27-05-2022 of 27/05/2022)

Veld wordt niet gepubliceerd. Formaat dd-mm-jjjj of dd/mm/jjjj afhankelijk van uw systeeminstellingen (bv. 27-05-2022 of 27/05/2022)

Veld wordt niet gepubliceerd. Code internationale classificatie van ziekten (ICD). Tot een nauwkeurigheid van een code van 4 tekens.

Veld wordt niet gepubliceerd. Code internationale classificatie van ziekten (ICD). Tot een nauwkeurigheid van een code van 4 tekens.

Veld wordt niet gepubliceerd. Code internationale classificatie van ziekten (ICD). Tot een nauwkeurigheid van een code van 4 tekens.

Te gebruiken in de overgangperiode waarin de vorige versie van de NTS mogelijk niet in het EC-systeem bestaat. Maximale lengte is 500 tekens.

Doel(en) van het project

Omzettinggericht en toegepast onderzoek: Andere aandoeningen van de mens [PT32]

This image shows a full page of white paper with horizontal blue lines, resembling notebook paper. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

Verwachte schade

Geraamde aantallen naar ernstgraad

[illegible]

Lot van in leven gehouden dieren

Geraamd aantal te hergebruiken, in het habitat-/houderijsysteem terug te plaatsen of voor adoptie vrij te geven dieren

[illegible]



Document nummer	Bestandsnaam import	Weigeringsgrond	Aantal pagina's voor	Tags
00001	46264619_Aanhouden aanvraag projectvergunning Dierproeven.pdf	5.1.2.e	2	Document deels openbaar
00002	46318553_Begeleidende brief antwoord CCD.docx	5.1.2.e	1	Document deels openbaar
00003	46425627_AVD50200202519083_beschikking_toe.pdf	5.1.2.e	7	Document deels openbaar
00004	AVD202519083a_NTS.pdf		7	Document openbaar
00005	AVD202519083b_adviesnota.pdf	5.1.2.e	11	Document deels openbaar
00006	AVD202519083c_Projectvoorstel.docx	5.1.2.e	13	Document deels openbaar
00007	AVD202519083d1_Bijlage dierproef.docx	5.1.2.e	11	Document deels openbaar
00008	AVD202519083d1a_Bijlage scoring sheet.docx		3	Document openbaar
00009	AVD202519083d2_Bijlage dierproef.docx	5.1.2.e	8	Document deels openbaar
00010	AVD202519083d3_Bijlage dierproef.docx	5.1.2.e	9	Document deels openbaar
00011	AVD202519083e_DEC advies.pdf	5.1.2.e	12	Document deels openbaar
00012	AVD202519083f_Aanvraagformulier.docx	5.1.2.e	3	Document deels openbaar



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

5.1.2.e

5.1.2.e

Postbus 5.1.2.e

5.1.2.e

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 93118
2509 AC Den Haag

centralecommissiedierproeven.nl
088 042 1000
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD 5.1.2.e 202519083

Datum 2 januari 2026
Betreft Aanhouden aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 5.1.2.e 5.1.2.e

Op 9 september 2025 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluatie van therapieën voor de behandeling van Parkinson". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD 5.1.2.e 202519083.

In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In dit bericht leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

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

Niet technische samenvatting

- In uw NTS onder de kop 'potentiële voordelen' spreekt u over de voordelen van het project voor dierenwelzijn. Deze zin is in deze context onjuist. Kunt u deze zin aanpassen?
- De NTS bevat enkele technische termen zoals "organoiden", "farmacodynamiek", "kinetiek" en "virale vector" die voor het algemeen publiek lastig navolgbaar kunnen zijn. Kunt u de tekst doorlopen en ingewikkelde termen toelichten of vervangen door simpelere woorden?
- Kunt u in uw NTS onder 'verwachte gevolgen/nadelige effecten' het woord 'ongemak' vervangen voor de wettelijke term 'ongerief'?

Onduidelijkheden

- Uit onze administratie blijkt dat de leges nog niet zijn overgemaakt. Kunt u nagaan of de factuur reeds is betaald?

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

Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen 14 dagen na de datum van dit bericht op. U kunt dit aanleveren via het formulier op mijn.rvo.nl/dierproeven.

Mochten uw antwoorden voor vrijdag 16 januari door ons ontvangen zijn, kunnen deze worden meegenomen tijdens de inhoudelijke bespreking van uw dossier in de vergadering van de CCD.

Wanneer een beslissing

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

Meer informatie

Heeft u vragen? Kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl voor meer informatie. U kunt ook een e-mail sturen naar info@zbo-ccd.nl. Of bel ons op: 088 042 1000.

Met vriendelijke groet,

Namens de Centrale Commissie Dierproeven

5.1.2.e

Dit bericht is automatisch gegenereerd en bevat daarom geen handtekening.

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Datum
2 januari 2026

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD 5.1.2.e 202519083

Geachte CCD,

Hartelijk dank voor uw bericht over onze aanvraag voor een projectvergunning dierproeven met projecttitel “**Evaluatie van therapieën voor de behandeling van Parkinson**” (aanvraagnummer AVD^{5.1.2.e} 202519083).

Hierbij sturen wij u, binnen de gestelde termijn, de gevraagde aanvullende informatie toe. De **niet-technische samenvatting (NTS)** is aangepast conform uw opmerkingen en bijgevoegd. Daarnaast hebben wij de betaling van de leges nagekeken.

Wij lijken geen factuur te hebben ontvangen of kunnen deze niet vinden en verzoeken u indien mogelijk deze opnieuw toe te sturen.

Wij vertrouwen erop u hiermee voldoende te hebben geïnformeerd. Mocht u nog aanvullende vragen hebben, dan beantwoorden wij deze uiteraard graag.

Met vriendelijke groet,

5.1.2.e



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 93118
2509 AC Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
088 042 1000
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD 5.1.2.e 202519083

Bijlagen

3

5.1.2.e

5.1.2.e

5.1.2.e

Postbus 5.1.2.e

5.1.2.e

Datum : 23 januari 2026

Betreft : Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 5.1.2.e 5.1.2.e

Op 9 september 2025 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluatie van therapieën voor de behandeling van Parkinson" met aanvraagnummer AVD 5.1.2.e 202519083. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed. Uit artikel 10a, eerste lid van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) volgt daarom dat het is toegestaan om de in de vergunning genoemde dierproeven uit te voeren binnen de gestelde vergunningsperiode. Deze vergunning wordt afgegeven voor de periode van 23 januari 2026 tot en met 31 oktober 2030.

Aan de vergunning hebben wij de volgende voorwaarde verbonden op grond van artikel 10a1, tweede lid van de wet.

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt. Daarom bent u verplicht om na afloop van de vergunning in een Beoordeling achteraf over uw project te rapporteren. Deze beoordeling zal uiterlijk oktober 2031 plaatsvinden. Er zal dan conform artikel 10a2, derde lid van de wet, beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt.

De onderbouwing van deze beslissing vindt u onder 'Overwegingen'.

Procedure

Advies dierexperimentencommissie

Wij hebben advies gevraagd bij de dierexperimentencommissie 5.1.2.e (hierna: DEC). Dit advies is ontvangen op 21 december 2025.

Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, derde lid van de wet.

Nadere vragen aanvrager

Op 2 januari 2026 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft tijdig antwoord gegeven.

De aanvullingen hadden betrekking op de niet-technische samenvatting en de leges.

Uw reactie is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Datum
22 januari 2026

Onze referentie
AVD 5.1.2.e 202519083

Overwegingen

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de DEC, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

Beoordeling achteraf

Na afloop van het project moet er een beoordeling plaatsvinden zoals bedoeld in artikel 10a1, eerste lid, onder d en artikel 10a1, derde lid van de wet. De reden van deze beoordeling achteraf is dat in dit project niet-menselijke primaten worden gebruikt. Deze beoordeling zal uiterlijk oktober 2031 plaatsvinden. Meer informatie over de eisen die gesteld worden bij de beoordeling achteraf vindt u in de bijlage 'Weergave wet- en regelgeving'

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen. Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling 5.1.2.e 5.1.2.e postbus 93118, 2509 AC Den Haag.

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

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. Nadat u een bezwaarschrift heeft ingediend kunt u een voorlopige voorziening vragen bij de voorzieningenrechter van de rechtbank in de vestigingsplaats van de vergunninghouder. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisende situatie.

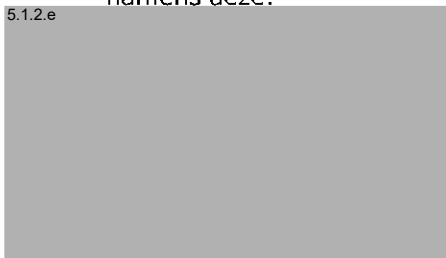
Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de vergunninghouder valt.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl, stuur een e-mail naar info@zbo-ccd.nl of neem telefonisch contact met ons op: 088-0421000.

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

5.1.2.e



Drs. M.J.K. van Butselaar
Algemeen Secretaris

Bijlagen:

- Projectvergunning
- DEC-advies
- Weergave wet- en regelgeving

Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam instelling of organisatie: 5.1.2.e
Straat en huisnummer: Postbus 5.1.2.e
Postcode en plaats: 5.1.2.e
Deelnemersnummer NVWA: 5.1.2.e

deze projectvergunning voor het tijdvak 23 januari 2026 tot en met 31 oktober 2030, voor het project "Evaluatie van therapieën voor de behandeling van Parkinson" met aanvraagnummer AVD^{5.1.2.e} 202519083, na advies van dierexperimentencommissie ^{5.1.2.e} De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is ^{5.1.2.e}

Het besluit is gebaseerd op de volgende (aangepaste) stukken:

1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 9 september 2025

2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:

a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 21 december 2025;

b Bijlagen dierproeven

- 3.4.3.1. Ontwikkeling Parkinsonmodel in non-humane primaten, zoals ontvangen op 21 december 2025;

- 3.4.3.2. Farmacokinetiek/dynamiek voor therapieën t.b.v. Parkinson, zoals ontvangen op 21 december 2025;

- 3.4.3.3. Evaluatie therapieën in Parkinsonmodel, zoals ontvangen op 21 december 2025;

c Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 15 januari 2026;

d Advies van dierexperimentencommissie, zoals ontvangen op 21 december 2025.

e De aanvullingen op uw aanvraag, zoals ontvangen op 15 januari 2026

Naam proef	Diersoort / Stam	Aantal dieren	Ongerief	Overige opmerkingen
3.4.3.1. Ontwikkeling Parkinsonmodel in nonhumane primaten				
	Java-apen (Macaca fascicularis) eigen fok	24	100,0% Matig	Er mag een maximum van 24 dieren gebruikt worden. Dit kunnen zowel java-apen als rhesusapen zijn.
	Rhesusapen (Macaca mulatta) eigen fok	24	100,0% Matig	Er mag een maximum van 24 dieren gebruikt worden. Dit kunnen zowel java-apen als rhesusapen zijn.
3.4.3.2. Farmacokinetiek/dynamiek voor therapieën t.b.v. Parkinson				
	Rhesusapen (Macaca mulatta) eigen fok	36	100,0% Matig	Er mag een maximum van 36 dieren gebruikt worden. Dit kunnen zowel java-apen als rhesusapen zijn.
	Java-apen (Macaca fascicularis) eigen fok	36	100,0% Matig	Er mag een maximum van 36 dieren gebruikt worden. Dit kunnen zowel java-apen als rhesusapen zijn.

3.4.3.3. Evaluatie therapieën in Parkinsonmodel				
	Rhesusapen (Macaca mulatta) eigen fok	72	100,0% Matig	Er mag een maximum van 72 dieren gebruikt worden. Dit kunnen zowel java-apen als rhesusapen zijn.
	Java-apen (Macaca fascicularis) eigen fok	72	100,0% Matig	Er mag een maximum van 72 dieren gebruikt worden. Dit kunnen zowel java-apen als rhesusapen zijn.

Voorwaarden

Beoordeling achteraf

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt. Daarom bent u verplicht om na afloop van de vergunning in een Beoordeling achteraf over uw project te rapporteren. Deze beoordeling zal uiterlijk oktober 2031 plaatsvinden. Er zal dan conform artikel 10a2, derde lid van de wet, beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt.

Geldende voorschriften

Wij wijzen u op onderstaande geldende voorschriften, die volgen uit artikel 1d, vierde lid, artikel 10, eerste lid en/of artikel 10a3 van de wet.

- Go/ no go momenten worden voor aanvang van elk experiment afgestemd met de IvD.
- Het is verboden een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is.
- Het is verboden dierproeven te verrichten voor een doel waarvan het belang niet opweegt tegen het ongerief dat aan het proefdier wordt berokkend.
- Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de Dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g, derde lid van de wet. Uit artikel 10b, eerste lid van de wet volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5, eerste lid van de wet de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven. Artikel 10b, tweede en derde lid van de wet schrijven voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister een ontheffing is verleend.

Verzorging

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 van de wet staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Aanvraagnummer:

AVD^{5.1.2.e} 1202519083

Einde van een dierproef

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

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

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

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

Levensloopp dossier

Voor iedere hond, kat en niet-menselijke primate moet volgens artikel 15a van de wet een levensloopp dossier bijgehouden worden.

Niet-menselijke primaten

De Minister heeft een ontheffing verleend volgens artikel 10e, zevende lid van de wet, die het gebruik van niet-menselijke primaten toestaat voor een periode van maximaal vijf jaar.

Beoordeling achteraf

Volgens artikel 10a1, eerste lid onder d en derde lid van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld.

Naam van het project	Evaluatie van therapieën voor de behandeling van Parkinson
NTS-identificatiecode	NTS-NL-244277 v.1
Nationale identificatiecode van de NTS	<i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>
Land	Nederland
Taal	nl
Indiening bij EU	ja
<i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Duur van het project, uitgedrukt in maanden.	60
Trefwoorden	Parkinson Therapie
Doel(en) van het project	Fundamenteel onderzoek: Zenuwstelsel Omzettinggericht en toegepast onderzoek: Zenuwziekten en psychische aandoeningen van de mens

DOELSTELLINGEN EN VERWACHTE VOORDELEN VAN HET PROJECT

Beschrijf de doelstellingen van het project (bijvoorbeeld het aanpakken van bepaalde wetenschappelijke onduidelijkheden, of wetenschappelijke of klinische behoeften).	De ziekte van Parkinson is een progressieve neurodegeneratieve aandoening waar wereldwijd miljoenen mensen last van hebben. Er bestaat nog geen behandeling die de ziekte kan genezen. De huidige behandelingen bieden slechts symptoombestrijding en kunnen de ziekte niet stoppen of voorkomen. Naast de bekende bewegingsproblemen krijgt meer dan de helft van de patiënten ook problemen met geheugen en denken, en uiteindelijk dementie. Een belangrijk kenmerk van deze ziekte is de ophoping van eiwitten in hersencellen, wat leidt tot sterfte van deze hersencellen, waardoor de problemen met bewegen ontstaan. Nieuwe behandelingen die deze eiwitophoping proberen te beïnvloeden, bevinden zich in een experimenteel stadium, maar moeten getest worden in een betrouwbaar (dier)model dat de menselijke ziekte zo goed mogelijk nabootst. Het doel van dit project is het ontwikkelen van een model in apen om de ziekte van Parkinson beter na te bootsen. Zo'n model is nodig om nieuwe, veelbelovende behandelingen goed te kunnen testen. Dit model zal gebaseerd zijn op toediening of het indirect opwekken van deze Parkinson eiwitten in hersengebieden die bij mensen met Parkinson zijn aangetast en belangrijk zijn bij bewegen en denken. Vervolgens onderzoeken we of dit leidt tot dezelfde veranderingen als bij mensen met Parkinson, zoals het verlies van zenuwcellen, en of het model geschikt is om nieuwe therapieën te testen, waarna we deze kunnen onderzoeken. Het doel van het project is om een belangrijk wetenschappelijk vraagstuk aan te pakken: namelijk of deze eiwitten bij apen leiden tot de symptomen die ook voorkomen bij de ziekte van Parkinson en of dit (dier)model geschikt is voor het testen van therapieën.
Welke potentiële voordelen kan dit project opleveren? Leg uit hoe de wetenschap vooruit kan worden geholpen of mensen, dieren of het milieu uiteindelijk voordeel kunnen hebben bij het project. Maak, waar van toepassing, een onderscheid tussen voordelen op korte termijn (binnen de looptijd van het project) en voordelen op lange termijn (die mogelijk pas	Op korte termijn levert dit project belangrijke kennis op over hoe nieuwe behandelingen zich in het lichaam verspreiden, welke bijwerkingen ze kunnen hebben, of ze veilig zijn en hoe het afweersysteem reageert. Ook krijgen onderzoekers meer inzicht in wat er in de hersenen gebeurt bij de ziekte van Parkinson, zoals de ophoping van eiwitten, het afsterven van zenuwcellen en ontstekingsreacties. Deze kennis is nodig om nieuwe behandelingen eerst goed te testen, omdat onderzoek met cellen in een laboratorium of met muizen vaak niet genoeg lijkt op de mens, om daarna veilig met een behandeling in mensen over te gaan. Daarnaast helpt dit project om nieuwe operatietechnieken, methoden om de ziekte op te wekken en geavanceerde scanmethoden verder te ontwikkelen en te verbeteren. Op lange termijn kan dit onderzoek bijdragen aan het ontwikkelen van veilige en effectieve behandelingen voor mensen met Parkinson, die niet alleen de klachten verlichten maar ook echt iets

worden bereikt nadat het project is afgerond).

doen aan de oorzaak van de ziekte. De huidige medicijnen kunnen dat nog niet. Omdat apen veel overeenkomsten hebben met mensen in de bouw en werking van de hersenen en het afweersysteem, kunnen ze een betrouwbaar beeld geven van hoe goed en veilig zulke therapieën bij mensen zullen werken. Daardoor kan dit onderzoek helpen om de ontwikkeling van nieuwe behandelingen te versnellen, de kosten te verlagen en menselijk lijden te verminderen.

Ook voor dierenwelzijn heeft dit project voordelen. De onderzoeken zijn zo opgezet dat er zo weinig mogelijk dieren nodig zijn. Bovendien worden hersenen en lichaamsmateriaal zorgvuldig bewaard in een biobank, zodat dit later opnieuw gebruikt kan worden in andere studies. Hierdoor zijn voor toekomstige onderzoeken vaak minder of geen nieuwe dierproeven nodig. Op die manier draagt dit project niet alleen bij aan betere zorg voor patiënten, maar ook aan zorgvuldiger gebruik van proefdieren, volgens de 3V's: vervanging, vermindering en verfijning.

VOORSPELDE SCHADE

In welke procedures worden de dieren gewoonlijk gebruikt (bijvoorbeeld injecties, chirurgische procedures)? Vermeld het aantal en de duur van deze procedures.	Binnen dit project worden volwassen apen blootgesteld aan een reeks zorgvuldig geplande procedures die noodzakelijk zijn voor de ontwikkeling en evaluatie van therapieën gericht op de ziekte van Parkinson. In de voorbereidende fase ondergaan de dieren onder verdoving een MRI-scan, waarmee hersenstructuren in kaart worden gebracht om de locatie van injecties nauwkeurig te bepalen. Deze scan duurt doorgaans één tot twee uur en vindt plaats in een gespecialiseerde faciliteit buiten het eigen instituut. Het transport van de dieren gebeurt daarbij zo rustig en stressvrij mogelijk. Na zorgvuldige planning volgt een operatie waarbij, onder narcose, een vorm van het ziekmakend eiwit of een virale vector wordt geïnjecteerd in een specifiek hersengebied. Deze chirurgische ingreep wordt uitgevoerd met geavanceerde apparatuur en technieken om het zo precies en veilig mogelijk uit te voeren. In sommige gevallen kan tijdens de operatie ook een experimentele behandeling worden toegediend, bijvoorbeeld in de hersenen, afhankelijk van het doel van het onderzoek. Na de operatie worden de dieren gedurende meerdere weken of maanden gemonitord op het ontstaan van symptomen die passen bij de ziekte van Parkinson. Gedragstesten worden hierbij ingezet om deze veranderingen te meten. Gedurende de studie vinden bloed- en hersenvochtafnames plaats onder verdoving. Deze monsters geven inzicht in de biologische en immunologische effecten van het model en de therapie en dragen bij aan het ontwikkelen van markers voor diagnostische doeleinden. Wanneer dat nodig en mogelijk is, worden PET-CT-scans gemaakt om veranderingen in de hersenen te volgen. Deze scans worden alleen gemaakt op momenten dat de dieren toch al onder verdoving zijn, om extra ongerief te voorkomen. Aan het einde van het experiment worden de dieren onder anesthesie gedood, waarna hersen- en lichaamsweefsels worden verzameld voor uitgebreid onderzoek en opslag in de biobank. Zo worden alle onderzoeksgegevens optimaal benut en blijft het aantal benodigde dieren tot een minimum beperkt.		
Wat zijn de verwachte gevolgen/nadelige effecten voor de dieren, bijvoorbeeld pijn, gewichtsverlies, inactiviteit/verminderde mobiliteit, stress, abnormaal gedrag, en wat is de duur van die effecten?	De dieren in dit onderzoek kunnen verschillende vormen van ongemak of bijwerkingen ervaren als gevolg van de behandelingen en procedures. Het vervoer naar andere locaties voor een MRI kan stress veroorzaken. Om dit zoveel mogelijk te voorkomen, worden de dieren vooraf getraind om rustig een transportkooi in te gaan. Direct na de operatie, waarbij een kleine hoeveelheid vector of eiwit in een specifiek hersengebied wordt geïnjecteerd, kunnen de dieren tijdelijk last hebben van pijn of irritatie. Dit komt doordat er een gaatje in de schedel wordt geboord om bij het juiste deel van de hersenen te komen. Om dit ongemak te beperken, krijgen de dieren goede pijnstilling en worden ze nauwlettend in de gaten gehouden door verzorgers en dierenartsen. Tijdens de studie ondergaan de dieren kortdurende verdoving, bijvoorbeeld voor bloedafnames en hersenscans. Dit kan leiden tot milde bijwerkingen zoals slaperigheid, minder eetlust of kortdurende desoriëntatie. Bij meerdere verdovingen binnen korte tijd worden de dieren extra bijgevoerd om gewichtsverlies te voorkomen. Omdat dit onderzoek de ziekte van Parkinson probeert na te bootsen, kunnen er in de weken of maanden na de injectie ook symptomen ontstaan die bij deze ziekte horen. Het ontstaan van deze symptomen wordt nauwlettend gevolgd met een scoreformulier. Om te voorkomen dat dieren onnodig last krijgen, wordt het ziekteproces in eerste instantie voorzichtig opgestart met lage doseringen. De meeste effecten, zoals pijn of stress, zijn van korte duur. Symptomen die verband houden met Parkinson-achtige symptomen kunnen langer aanhouden.		
Welke soorten en aantallen dieren zullen naar verwachting	Soort:	Totaal aantal	Geraamde aantallen naar ernstgraad

worden gebruikt? Wat zijn de verwachte ernstgraden en de aantallen dieren in elke ernstcategorie (per soort)?		Terminaal	Licht	Matig	Ernstig	
	Java-apen (Macaca fascicularis)	132	0	0	132	0
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	132	0	0	132	0
Wat gebeurt er met de dieren die aan het einde van de procedure in leven worden gehouden?	Soort:	Geraamd aantal te hergebruiken, in het habitat-/houderijsysteem terug te plaatsen of voor adoptie vrij te geven dieren				
		Hergebruikt	Teruggeplaatst	Geadopteerd		
	Java-apen (Macaca fascicularis)		36	0	0	
	Rhesusapen (Macaca mulatta)		36	0	0	
Geef de redenen voor het geplande lot van de dieren na de procedure.	De dieren die onderdeel zijn van de experimenten om de farmacodynamiek en kinetiek van therapieën te bestuderen kunnen worden teruggeplaatst in de experimentele voorraad om deel uit te maken van andere studies.					

TOEPASSING VAN DE DRIE V'S

1. Vervanging

Beschrijf welke diervrije alternatieven op dit gebied voorhanden zijn en waarom zij niet voor het project kunnen worden gebruikt.

Voor de ziekte van Parkinson zijn verschillende diervrije onderzoeksmethoden beschikbaar, zoals celweek, organoïden, computersimulaties en het gebruik van menselijk postmortem weefsel. Deze modellen zijn waardevol voor het bestuderen van specifieke cellulaire processen en voor het screenen van kandidaat-therapieën. Toch zijn ze op dit moment niet geschikt om de complexe, systemische effecten van nieuwe behandelingen in kaart te brengen of om de veiligheid en werkzaamheid betrouwbaar te beoordelen van een geheel organisme.

De ziekte van Parkinson is een progressieve hersenaandoening waarbij niet alleen het centrale zenuwstelsel is aangedaan, maar ook het afweersysteem, de bloed-hersenbarrière en andere systemische processen betrokken zijn. Deze complexe interacties kunnen niet goed worden gemodelleerd in celweken of andere diersmodellen. Ook ontbreekt bij celweek de mogelijkheid om gedrag, zoals beweging en geheugen te meten, welke aspecten voor mensen ook belangrijk zijn bij het beoordelen van de effectiviteit van therapieën.

Diersmodellen in knaagdieren bieden deels een oplossing, maar vertonen belangrijke verschillen in neuroanatomie, eiwitexpressie, afweerreacties en ziekteverloop ten opzichte van de mens. Voor het betrouwbaar vertalen van therapieën naar een klinische toepassing is het daarom noodzakelijk om deze eerst te onderzoeken in een model dat qua hersenstructuur en fysiologie dicht bij de mens staat. Non-humane primaten zijn hiervoor het enige geschikte model in de laatste preklinische fase, juist vanwege hun hoge vertaalbare en voorspellende waarde.

2. Vermindering

Leg uit hoe de aantallen dieren voor dit project zijn bepaald. Beschrijf de stappen die zijn genomen om het aantal te gebruiken dieren te verminderen en de beginselen die zijn gebruikt bij het opzetten van de studies. Beschrijf, waar van toepassing, de praktijken die gedurende het hele project zullen worden toegepast om het aantal dieren die in overeenstemming met de wetenschappelijke doelstellingen werden gebruikt, tot een minimum te beperken. Deze praktijken kunnen bijvoorbeeld bestaan uit proefprojecten, computersmodellen, het delen van weefsel en hergebruik.

Het aantal dieren dat in dit project wordt gebruikt, is zorgvuldig bepaald op basis van eerdere onderzoeken en bestaande kennis. Het doel is om met zo min mogelijk dieren betrouwbare en bruikbare gegevens te krijgen. Daarom gebeurt de opzet voor het ontwikkelen van het Parkinson-model in apen in kleine groepen. Tijdens het opzetten van het model wordt telkens gewerkt met een beperkte groep dieren ($n=2$) om te kijken of de aanpak goed werkt — zoals de hoeveelheid, de plek van injectie of het soort virale vector. Pas wanneer deze eerste resultaten positief zijn, wordt de methode herhaald of aangepast in een volgende kleine groep dieren. Op deze manier wordt stapsgewijs gewerkt naar een goed werkend model, met een maximaal gebruik van 24 dieren voor ontwikkeling.

Voor het testen van therapieën wordt uitgegaan van maximaal drie experimentele studies, elk met naar verwachting niet meer dan 24 dieren. Hierbij wordt gebruikgemaakt van berekeningen gebaseerd op eerder behaalde resultaten en het verwachte effect van de therapie. In sommige gevallen kunnen dieren als hun eigen controle dienen, bijvoorbeeld als het model of de therapie maar in één hersenhelft wordt toegediend. Daardoor zijn er minder dieren nodig.

Tijdens het project worden ook verschillende manieren gebruikt om het aantal dieren verder te beperken. Zo worden hersen- en lichaamsweefsels na het overlijden van de dieren verzameld en bewaard in de biobank van het instituut. Deze kunnen later gebruikt worden voor andere onderzoeken, waardoor er geen nieuwe dieren nodig zijn. De resultaten van dit project worden bovendien gedeeld met andere onderzoeksgroepen, zodat herhaling van experimenten voorkomen wordt.

Tot slot worden moderne scanmethoden, PET-CT, gebruikt om veranderingen in hetzelfde dier langere tijd te volgen. Doordat dezelfde dieren meerdere keren onderzocht kunnen worden, zijn er minder dieren nodig.

3. Verfijning

Geef voorbeelden van de specifieke maatregelen (bv. verscherpte monitoring, postoperatieve behandeling, pijnbestrijding, training van dieren) die in verband met de procedures moeten worden genomen om de welzijnskosten (schade) voor de dieren tot een

Om het welzijn van de dieren zo goed mogelijk te waarborgen, worden binnen dit project verschillende verfijningstechnieken toegepast. De dieren worden zo veel mogelijk getraind om vertrouwd te raken met de experimentele setting. Hierdoor wordt stress sterk verminderd. Tijdens chirurgische ingrepen worden de dieren onder volledige narcose gebracht en krijgen zij pijnstilling, zowel tijdens als na de operatie. De operaties worden zo precies mogelijk uitgevoerd met moderne technieken, waarbij een MRI-scan helpt om heel nauwkeurig te werken.

Na de operatie vindt intensieve postoperatieve zorg plaats. Dieren worden dagelijks goed in de gaten gehouden. Als er tekenen zijn van pijn of ongemak, worden zij beoordeeld door een dierenarts, die aanvullende pijnstilling of ondersteunende zorg kan toedienen. Ook tijdens herhaalde

minimum te beperken. Beschrijf de mechanismen om gedurende de looptijd van het project nieuwe verfijningstechnieken in gebruik te nemen.	verdoving zullen dieren worden bijgevoerd om gewichtsverlies te voorkomen. Gedurende de looptijd van het project is er structureel overleg tussen onderzoekers, diervverzorgers, dierenartsen en de Instantie voor Dierenwelzijn (IVD).
Licht de keuze van de soorten en de bijbehorende levensstadia toe	In dit project is gekozen voor het gebruik van volwassen resusapen (<i>Macaca mulatta</i>) en java-apen (<i>Macaca fascicularis</i>). Beide soorten zijn non-humane primaten met een hersenstructuur en afweersysteem die sterk overeenkomen met die van de mens. Dit maakt ze geschikt voor onderzoek naar neurodegeneratieve aandoeningen zoals de ziekte van Parkinson, waarbij de interactie tussen hersenen, afweersysteem en gedrag centraal staat. Hierdoor kan een belangrijke vertaalslag worden gemaakt als laatste stap voordat therapieën worden toegepast in de mens. De ziekte van Parkinson treedt vrijwel uitsluitend op bij volwassen mensen. Daarom is het essentieel om in het onderzoek gebruik te maken van volwassen dieren, waarvan het zenuwstelsel volledig is ontwikkeld. Dit vergroot de relevantie en voorspellende waarde van de resultaten. De dieren worden geselecteerd uit de interne fokkolonie van het Instituut. Hierdoor is de medische, genetische en sociale achtergrond van de dieren bekend, wat bijdraagt aan een consistente en betrouwbare onderzoeksopzet. Zowel mannelijke als vrouwelijke dieren kunnen worden ingezet, omdat het ziektebeeld en de reactie op behandelingen naar verwachting niet geslachtsafhankelijk zijn. Op deze manier wordt er bijgedragen aan de betrouwbaarheid van het model en het welzijn van de dieren tijdens het onderzoek.

VOOR EEN BEOORDELING ACHTERAF GESELECTEERD PROJECT

Project geselecteerd voor BA?	ja
Termijn voor BA	30-04-2031
Reden voor de beoordeling achteraf	
Bevat ernstige procedures	
Maakt gebruik van niet-menselijke primaten	ja
Andere reden	
Toelichting van de andere reden voor de beoordeling achteraf	

AANVULLENDE VELDEN

Nationaal veld 1 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Nationaal veld 2 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Nationaal veld 3 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Nationaal veld 4 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Nationaal veld 5 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Startdatum project <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Einddatum project <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Goedkeuringsdatum project <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
ICD-code 1 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
ICD-code 2 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
ICD-code 3 <i>Veld wordt niet gepubliceerd.</i>	
Link naar de eerdere versie van de NTS buiten het EC-systeem	



Advies aan CCD

Datum 24 december 2025
Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven AVD202519083

Instelling: 5.1.2.e
Onderzoeker: 5.1.2.e
Titel project: Evaluatie van therapieën voor de behandeling van Parkinson
Aanvraagnummer: AVD202519083
Betreft: Nieuwe aanvraag
Categorieën: Fundamenteel onderzoek
Translationeel of toegepast onderzoek

1 Doelstellingen & belang van het project

Doelstelling	Citaat: Het directe doel van het project is tweeledig. Het eerste directe doel is de ontwikkeling van een NHP-diermodel voor ZvP via overmatige expressie van pathologische eiwitten in specifieke hersenstructuren. Het opzetten van een diermodel waarin deze eiwitten ophopen in specifieke hersenstructuren leidt tot een valide manier om therapieën te evalueren die deze pathologische processen kunnen moduleren. Daarnaast biedt de ontwikkeling van het diermodel mogelijkheden om fundamenteel onderzoek te doen naar pathologische eiwitophoping in het brein, hoe deze eiwitophoping zich verspreidt, wat voor immunologische reacties dit voortbrengt in het brein en op welke manier dit leidt tot selectief verlies van zenuwcellen. Het tweede directe doel is het translationele onderzoek, om nieuwe therapieën in dit model te evalueren. De effectiviteit van therapieën wordt onderzocht op basis van de primaire uitkomstparameters: ophoping van pathologische eiwitten, verlies van dopaminerge neuronen. Daarnaast worden ook andere aspecten onderzocht zoals het immuunsysteem en indien mogelijk motorische en cognitieve achteruitgang. Het uiteindelijke doel is het vergroten van de kennis van pathofysiologische processen in ZvP en het verkrijgen van preklinisch bewijs voor een effectieve en veilige ziekte modificerende therapie voor patiënten met ZvP. Daarmee willen we bijdragen aan de voorbereiding van toekomstige klinische studies en de ontwikkeling van nieuwe behandelopties voor deze patiënten ter verbetering van de kwaliteit van leven van mensen met ZvP. De doelen van het project zijn realistisch en haalbaar.
---------------------	---

Wetenschappelijk en maatschappelijk belang	Citaat: ZvP behoort tot een van de snelst groeiende neurodegeneratieve aandoeningen wereldwijd, met grote impact op de kwaliteit van leven van patiënten en hun omgeving. De medische en maatschappelijke last is aanzienlijk en zal de komende decennia verder toenemen door de vergrijzing. Er bestaat op dit moment geen behandeling die het ziekteproces daadwerkelijk vertraagt of stopt. Er is dan ook dringend behoefte aan ziekte-modificerende therapieën die de onderliggende neurodegeneratieve processen beïnvloeden. De ontwikkeling van dergelijke therapieën vereist betrouwbare en reproduceerbare diermodellen die het ziekteverloop van ZvP zo goed mogelijk nabootsen, inclusief de eiwitopathologie, progressieve neuronale uitval, en ontstekingsreacties in het brein. NHPs vormen in dit opzicht een onmisbare schakel vanwege hun hoge mate van overeenkomst met de mens in termen van neuroanatomie, cognitie, en immuunreacties als laatste preklinische stap voor nieuwe therapieën. Wetenschappelijk belang: Het project biedt een platform voor het bestuderen van fundamentele ziekteprocessen, zoals eiwitopathologie, neuronale degeneratie en neuroinflammatie, in een systeem dat dicht bij de mens staat dan knaagdiermodellen. Dit versterkt de betrouwbaarheid van gevonden preklinische inzichten. Deze resultaten zijn breed relevant voor het internationale onderzoeksveld, omdat er nog veel openstaande vragen rond pathogenese en therapieontwikkeling zijn. Om dit belang te dienen worden resultaten actief gepubliceerd in wetenschappelijke tijdschriften en gepresenteerd op congressen. Op die manier worden de inzichten toegankelijk voor onderzoekers wereldwijd en wordt de waarde van het project verder vergroot. Een dergelijk model kan mogelijk in de toekomst ook worden omgezet naar andere ziektes waarbij eiwitopathologie een grote rol speelt zoals de ziekte van Alzheimer, een andere ernstige neurodegeneratieve ziekte waar momenteel nog geen medicijnen voor zijn. Maatschappelijk belang: Door het testen van nieuwe medicijnen voor ZvP die daadwerkelijk aangrijpen op een van de ziekte-inducerende mechanismes, zoals eiwitopathologie, is er een grotere kans van slagen van translatie van medicijnen. Nieuwe behandelingen voor ZvP zal leiden tot een verbetering van de kwaliteit van leven voor patiënten en hun directe omgeving, minder lijden, en lagere zorgkosten. Wereldwijd zijn er honderdduizenden mensen die baat hebben bij dergelijke therapieën. Daarnaast levert dit project waardevolle kennis op voor het onderzoeksveld van neurodegeneratieve ziekten, waaronder de ziekte van Alzheimer en andere vormen van dementie, die vergelijkbare pathologische mechanismen delen (eiwitopathologie). Het belang is voldoende uitgewerkt en onderbouwd.
Belangenverstrengeling	Geen van de medewerkers van het Secretariaat heeft een arbeidsrelatie gehad met de aanvrager die minder dan 5 jaar geleden is beëindigd of heeft andere belangen die mogelijk zouden kunnen leiden tot oneigenlijke beïnvloeding.

Maatschappij	Er wordt verwacht dat het onderwerp in die mate politiek of maatschappelijk gevoelig is, dat eventuele extra communicatie uitingen nodig zijn. Er zal gebruik worden gemaakt van non-humane primaten.

2 Kwaliteit Synthesis of Evidence

Kwaliteit SoE	Voorwerk is voldoende beschreven. Er is aannemelijk gemaakt dat het model geschikt is voor het gestelde doel.
Diermodel	Citaat bijlage dierproeven I: Dit voorstel omvat de ontwikkeling van een diermodel in nonhumane (NHP) primaten voor de neurodegeneratieve ziekte van Parkinson (ZvP). Hierbij wordt gebruik gemaakt van resus- en java-apen (Macaca Mulatta en Macaca Fascicularis). De ontwikkeling van een diermodel voor ZvP is essentieel om nieuwe therapieën en medicijnen te onderzoeken. Bij ZvP vindt er een pathologische ophoping van eiwitten plaats in het brein waardoor specifieke cellen (dopaminerge neuronen) in het brein afsterven. Voor het fundamentele en toegepaste onderzoek zal er bij de dieren een injectie plaatsvinden in de specifieke hersengebieden (zoals bijvoorbeeld de substantia nigra en het striatum) die zijn aangedaan bij ZvP, die uiteindelijk zal leiden tot ophoping van deze pathologische eiwitten. Dit kan op twee manieren bereikt worden: 1. Het injecteren van een virale vector die leidt tot de inductie van pathologische eiwitophoping in de bovengenoemde specifieke hersengebieden en hersencellen. OF 2. Een injectie met eiwitten die leidt tot de inductie van pathologische eiwitophoping in de bovengenoemde specifieke hersengebieden en hersencellen. Door gebruik te maken van deze strategie van het induceren van pathologische eiwitophoping zoals dit ook gebeurt in de hersenen van mensen met ZvP kan dit diermodel uiteindelijk toegepast worden om effecten van therapieën voor de behandeling van ZvP te ontwikkelen en te onderzoeken (bijlage 3).

3 3V's (Vervanging, Vermindering & Verfijning)

Er is in voldoende mate onderbouwd dat de doelstelling niet zonder dieren behaald kan worden en voldoende duidelijk is ingegaan op het "nee, tenzij..." beginsel.

Er is in voldoende mate onderbouwd dat het project met zo min mogelijk dieren en zo verfijnd mogelijk wordt uitgevoerd.

4 DEC advies

DEC advies	Citaat C9: ZvP is een complexe neurodegeneratieve ziekte waarbij naast neurologische ook andere (immunologische) processen een rol spelen. Hoewel er zowel met gebruikmaking van humaan weefsel en experimenten in knaagdieren al veel onderzocht kan worden, is het niet mogelijk om daarmee betrouwbare voorspellingen te doen over de werkzaamheid van therapieën die in het complexe mechanisme van de ZvP ingrijpen. Ook zijn de targets van de therapieën vaak wel aanwezig in mens en niet-humane primaat maar niet altijd in andere diersoorten. Voor alle studies kunnen in principe dieren gebruikt worden die al eerder in een andere studie zijn gebruikt. Hergebruik zal plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in de Wet op de Dierproeven. Citaat C11: Het ongerief is voor alle dieren correct als matig ingeschat. De dieren zullen narcose ondergaan voor stereotactisch geleide intracraniale injectie en meermaals sedatie ondergaan voor bloedafnames, CSF afnames en MRI, PET/CT scans. Daarnaast kunnen de dieren in appendix 1 en 3 ongerief ervaren van de intracraniale toediening van AAVs en de symptomen van ZvP. In combinatie zijn de gevolgen van deze handelingen terecht als matig ongerief ingeschat. Door implementatie van humane eindpunten op basis van klinische symptomen wordt ernstig ongerief voorkomen. Citaat C13: Naar de mening van de DEC zijn de humane eindpunten zorgvuldig beschreven en is de kans dat dieren een humaan eindpunt zullen bereiken adequaat ingeschat als zijnde klein. Dieren die ZvP kunnen ontwikkelen zullen worden gescoord aan de hand van een uitgebreid scoring systeem. Het is helder wanneer er een humaan eindpunt wordt bereikt. Bij PK/PD-studies kunnen onverwachte bijwerkingen optreden. Met name wanneer er intra-craniale toediening is van een middel. Door ervaren personeel in te zetten zullen de risico's hiervan tot een minimum beperkt worden.
-------------------	--

	Citaat C18: Dieren van beide geslachten zullen worden gebruikt in het onderzoek, omdat de ZvP in gelijke mate kan optreden in beide geslachten. Alleen wanneer een therapie verschillend werkzaam kan zijn en mannelijke en vrouwelijke dieren, zullen beide geslachten in gelijke aantallen getest worden in bijlage 2. Hoewel de aanvrager dit niet aangeeft, kan dit consequenties hebben voor de keuze van het geslacht in bijlage 1 en 3. Citaat C19: Bij PK/PD-studies zullen de dieren in leven blijven aan het einde van het experiment tenzij het nodig is de biodistributie uitgebreid te bestuderen. Alle dieren waarbij ZvP wordt geïnduceerd worden gedood aan het einde van het experiment omdat het nodig is om de pathologische veranderingen in het brein te bestuderen. Dieren worden tijdens de studie gedood (en onderzocht) wanneer humane eindpuntcriteria worden bereikt, dit om verder ongerief te voorkomen (zoals gedefinieerd in de projectaanvraag). Er wordt een passende dodingsmethode gebruikt (conform bijlage IV van de richtlijn). Ethische afweging van de DEC: Citaat D: 1) Rechtvaardigt het opzetten van een model voor ZvP, het verkrijgen van kennis over het ontstaan van de ZvP, en het testen van nieuwe therapeutische middelen voor ZvP het cumulatief matig ongerief dat maximaal 132 niet-humane primaten in de experimenten ondergaan? Is het gebruik van niet-humane primaten in dit geval gerechtvaardigd of kan de gewenste informatie ook verkregen worden door het inzetten van andersoortige proefdieren of andere onderzoek modellen? 2) De ZvP treft in Nederland 4,5% van de mensen en wereldwijd zijn er 15 miljoen patiënten. De verwachting is dat dit aantal zal toenemen en in 2050 tot 25 miljoen is gegroeid. De DEC heeft stilgestaan bij dit aspect en hoewel ZvP een ziekte is die al heel lang bestaat is de recente en voorziene toename zorgelijk. Een mogelijke relatie met het veelvuldige gebruik van bestrijdingsmiddelen in de land- en tuinbouw is daarbij niet uit te sluiten. Maar ook zonder deze relatie is het van belang dat er voor deze zeer ernstige aandoening een effectieve therapie komt. Er is nog veel niet bekend over het mechanisme dat verantwoordelijk is voor het ontstaan van ZvP. De nu beschikbare middelen verminderen de symptomen voor patiënten, maar kunnen het voortschrijdende proces niet stoppen. De nu beschikbare onderzoeksmodellen zijn veelal gebaseerd op chemische inductie die geen verband houden met het ontstaansmechanisme van ZvP. Er is behoefte aan meer kennis van de ZvP en aan nieuwe therapieën die het neurodegeneratieve proces kunnen stoppen. Het in deze aanvraag te ontwikkelen model van ZvP in niet humane primaten sluit meer aan op de ontstaansgeschiedenis van ZvP bij de mens. De voordelen van dit onderzoek zijn zowel bevorderlijk voor patiënten en het algemene welzijn van de samenleving (minder zieken, minder belasting van de directe omgeving van patiënten) als economisch (minder ziekte die deelname aan de arbeidsmarkt beperkt, minder zorgkosten).
--	---

	Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en de autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te laten ondergaan. Ze kunnen ziek worden en pijn ondervinden door bloedafnames, injecties en de symptomen van ZvP. De dieren ondervinden hiervan cumulatief maximaal matig ongerief. De waarden voor het onderzoeksveld zijn toenemend wetenschappelijk inzicht in de rol van eiwitophoping in het brein in het ontstaan van ZvP en de mogelijke werking van middelen die dat kunnen tegengaan. De DEC vindt dit een belangrijk aspect van het project omdat vergroting van kennis kan leiden tot een betere aanpak van deze ziekte, niet allen wat betreft de behandeling, maar ook mogelijk de preventie daarvan. Daarmee is dit onderzoek belangrijk en het is de uitdrukkelijke bedoeling om dit te publiceren. De waarde voor de farmaceutische industrie is het op de markt kunnen brengen van werkzame middelen voor ZvP, een economisch belang. Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit werk op termijn leiden tot meer kennis over de ZvP en mogelijk het beschikbaar komen van een therapie die het neurodegeneratieve proces van ZvP kan stoppen. Het verwachte ongerief voor de dieren valt daarom moreel te verantwoorden. 3) De DEC concludeert dat de belangen van de samenleving en patiënten die worden nagestreefd in dit project zwaarder wegen dan de belangen/waarden van de betrokken proefdieren. Het onderzoek is van groot belang voor mensen, omdat het ontwikkelen van een effectief middel voor ZvP dat de progressie van de ziekte kan stoppen de kwaliteit van leven voor patiënten en hun naaste omgeving zal verbeteren. Ook zullen de zorgkosten van de maatschappij zal verminderen, maar dit acht de DEC een belang dat op zich niet doorslaggevend is. Daarnaast kan dit onderzoek meer inzicht geven in de mechanismen die ten grondslag liggen aan het ontstaan van ZvP. Dit is van belang, omdat dan mogelijk nieuwe aangrijpingspunten kunnen worden geïdentificeerd voor verdere ontwikkeling van therapieën voor ZvP. De kennis en kunde van de aanvrager wordt onderbouwd door de uitgebreide kennis van onderzoek met niet-humane primaten. Daarnaast wordt samengewerkt met onderzoekers die gespecialiseerd zijn in het toedienen van AAVs en eiwit in het brein van o.a. niet-humane primaten. De keuze voor deze diersoorten (resus en java aap) is gebaseerd de fysiologische en neuro-anatomische overeenkomsten met de mens. De dieren zijn specifiek gefokt voor gebruik in onderzoek en worden sociaal gehuisvest. De 3V-principes worden gehonoreerd door hergebruik van dieren, en training van dieren voor het meewerken aan biotechnische handelingen. Het ongerief is maximaal matig. Humane eindpunten worden toegepast en zijn zorgvuldig beschreven.
--	--

	De haalbaarheid van de doelstellingen van dit project wordt als hoog ingeschat. De te onderzoeken therapieën voor ZvP zijn in gevorderde stadia van ontwikkeling binnen het netwerk van de onderzoeksgroep. De kandidaat medicijnen zijn tevoren gekarakteriseerd in in vitro en in vivo (veelal knaagdieren) modellen en zijn niet toxisch. In de laatste fase van de preklinische ontwikkeling is het echter noodzakelijk om de effectiviteit en veiligheid te onderzoeken in een diermodel waarin de aard en verloop van de ziekte, alsmede de mogelijke interactie tussen kandidaat middel en de organen/weefsels, grote overeenkomsten vertonen met de mens. De effecten van de kandidaat middelen kunnen in het ZvP model alleen in de aap voldoende worden onderzocht op effectiviteit en het onderzoek kan ook meer inzicht geven in de mechanismen die ten grondslag liggen aan ZvP. Gezien het bovenstaande is de DEC van oordeel dat dit project het gebruik van deze proefdieren rechtvaardigt. De DEC heeft extern advies ingewonnen bij Aanvrager Het DEC-advies is Verlenen onder Voorwaarden Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.
--	---

5 Kwaliteit DEC advies

Kwaliteit DEC advies	Het DEC advies is helder en navolgbaar. In het DEC advies is op heldere wijze inzicht gegeven in de vragen die aan de aanvrager zijn gesteld. Bij de beantwoording van de beoordelingsvragen verstrekt u een heldere onderbouwing. De ethische afweging volgt op logische wijze uit de beantwoording van de C vragen.
	Er zijn geen DEC leden uitgesloten van de behandeling van de aanvraag vanwege afhankelijkheid of partijdigheid.

6 Beschrijving dieren

Tabel 1 Beschrijving dierproeven

Naam proef	Diersoort	Stam	Aantal dieren	Herkomst
3.4.3.1. Ontwikkeling Parkinsonmodel in nonhumane primaten				
	Java-apen (Macaca fascicularis)	eigen fok	24	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn, Niet menselijke primaten
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	eigen fok	24	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn, Niet menselijke primaten
3.4.3.2. Farmacokinetiek/dynamiek voor therapieën t.b.v. Parkinson				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	eigen fok	36	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn, Niet menselijke primaten
	Java-apen (Macaca fascicularis)	eigen fok	36	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn, Niet menselijke primaten
3.4.3.3. Evaluatie therapieën in Parkinsonmodel				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	eigen fok	72	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn, Niet menselijke primaten
	Java-apen (Macaca fascicularis)	eigen fok	72	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn, Niet menselijke primaten

Tabel 2 Ongerief en humane eindpunten

Naam proef		Opmerkingen
3.4.3.1. Ontwikkeling Parkinsonmodel in nonhumane primaten	De humane eindpunten zijn voldoende beschreven.	
Java-aper (Macaca fascicularis)	Ongerief 100,0% Matig	Er mag een maximum van 24 dieren gebruikt worden. Dit kunnen zowel java-aper als rhesusaper zijn.
Rhesusaper (Macaca mulatta)	Ongerief 100,0% Matig	Er mag een maximum van 24 dieren gebruikt worden. Dit kunnen zowel java-aper als rhesusaper zijn.
3.4.3.2. Farmacokinetiek/dynamiek voor therapieën t.b.v. Parkinson	De humane eindpunten zijn voldoende beschreven.	
Rhesusaper (Macaca mulatta)	Ongerief 100,0% Matig	Er mag een maximum van 36 dieren gebruikt worden. Dit kunnen zowel java-aper als rhesusaper zijn.
Java-aper (Macaca fascicularis)	Ongerief 100,0% Matig	Er mag een maximum van 36 dieren gebruikt worden. Dit kunnen zowel java-aper als rhesusaper zijn.
3.4.3.3. Evaluatie therapieën in Parkinsonmodel	De humane eindpunten zijn voldoende beschreven.	
Rhesusaper (Macaca mulatta)	Ongerief 100,0% Matig	Er mag een maximum van 72 dieren gebruikt worden. Dit kunnen zowel java-aper als rhesusaper zijn.
Java-aper (Macaca fascicularis)	Ongerief 100,0% Matig	Er mag een maximum van 72 dieren gebruikt worden. Dit kunnen zowel java-aper als rhesusaper zijn.

Tabel 3 Doden van de dieren

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
3.4.3.1. Ontwikkeling Parkinsonmodel in nonhumane primaten	Ja	Ja
3.4.3.2. Farmacokinetiek/dynamiek voor therapieën t.b.v. Parkinson	Ja	Ja
3.4.3.3. Evaluatie therapieën in Parkinsonmodel	Ja	Ja

Tabel 4 Huisvesting en verzorging

3.4.3.1. Ontwikkeling Parkinsonmodel in nonhumane primaten	
Hergebruik dieren	Citaat: Dieren kunnen worden hergebruikt als dit geen invloed heeft op de uitkomsten van de huidige studie. De gezondheid en het welzijn van de dieren worden vooraf zorgvuldig beoordeeld door een dierenarts. Het cumulatieve ongerief of blijvende effecten van eerdere studies bepalen of hergebruik mogelijk is. Dit wordt per studie overwogen en in overleg met de IvD beoordeeld.
3.4.3.2. Farmacokinetiek/dynamiek voor therapieën t.b.v. Parkinson	
Hergebruik dieren	Zie toelichting onder 3.4.3.1.
3.4.3.3. Evaluatie therapieën in Parkinsonmodel	
Hergebruik dieren	Zie toelichting onder 3.4.3.1.

Tabel 5 Gebruik van geslachten

Naam proef		Opmerkingen
3.4.3.1. Ontwikkeling Parkinsonmodel in nonhumane primaten	worden alle geslachten gebruikt?	
Java-apen (Macaca fascicularis)	Ja	
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ja	
3.4.3.2. Farmacokinetiek/dynamiek voor therapieën t.b.v. Parkinson	worden alle geslachten gebruikt?	
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ja	
Java-apen (Macaca fascicularis)	Ja	
3.4.3.3. Evaluatie therapieën in Parkinsonmodel	worden alle geslachten gebruikt?	
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ja	
Java-apen (Macaca fascicularis)	Ja	

Bijzonderheden dierproef

Er wordt gebruikgemaakt van non-humane primaten. Dit is in de ogen van het Secretariaat voldoende onderbouwd.

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

Proces	De CCD heeft geen aanvullende vragen gesteld aan de DEC. De volgende vragen zijn gesteld aan de aanvrager: Over de NTS: - In uw NTS onder de kop 'potentiële voordelen' spreekt u over de voordelen van het project voor dierenwelzijn. Deze zin is in deze context onjuist. Kunt u deze zin aanpassen? - De NTS bevat enkele technische termen zoals "organoïden", "farmacodynamiek", "kinetiek" en "virale vector" die voor het algemeen publiek lastig navolgbaar kunnen zijn. Kunt u de tekst doorlopen en ingewikkelde termen toelichten of vervangen door simpelere woorden? - Kunt u in uw NTS onder 'verwachte gevolgen/nadelige effecten' het woord 'ongemak' vervangen voor de wettelijke term 'ongerief'? Administratief: - Uit onze administratie blijkt dat de leges nog niet zijn overgemaakt. Kunt u nagaan of de factuur reeds is betaald?
---------------	--

8 Samenvatting

Het projectvoorstel bevat voldoende informatie over het belang van het onderzoek, de strategie, de 3V's, het ongerief en de humane eindpunten om tot een oordeel te kunnen komen. Het DEC-advies kan als grondslag dienen voor het besluit.

In dit project worden non-humane primaten gebruikt. De inzet van deze diersoort is in de ogen van de DEC en het Secretariaat voldoende onderbouwd. Vanwege de inzet van non-humane primaten zal een voorwaarde in de vorm van een beoordeling achteraf gekoppeld worden aan de vergunning.

Er kan sprake zijn van hergebruik. Er kunnen dieren worden ingezet die eerder in een andere studie zijn gebruikt. Daarnaast kunnen de dieren uit bijlage 2 die niet gedood hoeven te worden later weer ingezet worden in een ander project. De DEC en het Secretariaat vinden dit voldoende onderbouwd.

9 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning

Het Secretariaat volgt het DEC-advies.

Het Secretariaat adviseert dit project toe te wijzen. Voorstel is om de vergunning te verlenen van 20 januari 2026 tot en met 31 oktober 2030.

Hierbij stelt het Secretariaat voor de volgende voorwaarden te stellen:

Beoordeling achteraf

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt. Daarom bent u verplicht om na afloop van de vergunning in een Beoordeling achteraf over uw project te rapporteren. Deze beoordeling zal uiterlijk oktober 2031 plaatsvinden. Er zal dan conform artikel 10a2, derde lid van de wet, beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt.



Formulier Projectvoorstel dierproeven

- Dit formulier gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit formulier hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie vindt u in de 'Toelichting op de te gebruiken formulieren voor de aanvraag van een projectvergunning' op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0800-789 0789).

1 Algemene gegevens

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

2 Categorie van het project

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

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2.1 aangekruiste categorieën.

De ziekte van Parkinson (ZvP) is een progressieve neurodegeneratieve aandoening waarbij bepaalde zenuwcellen (dopaminerge neuronen) in de hersenen langzaam afsterven, vooral in de substantia nigra, een gebied in de hersenen. Samen met het striatum is dit gebied verantwoordelijk voor de coördinatie van bewegingen. De neuronen die afsterven bij ZvP maken normaal gesproken dopamine aan, een neurotransmitter die essentieel is voor het aansturen van bewegingen. Door het neuronale verlies leidt dat

bij ZvP tot problemen in de motorcoördinatie. Daarnaast is dopamine van belang voor veel andere processen in het brein. Vaak vindt de diagnose van ZvP pas plaats op het moment dat al de helft van de dopamine producerende hersencellen zijn afgestorven¹.

Naast motorische symptomen zoals tremoren en stijfheid, komen ook vaak niet-motorische symptomen voor zoals cognitieve achteruitgang, depressie, verlies van reukvermogen en slaapproblemen. Meer dan 50% van de patiënten ontwikkelt uiteindelijk ook dementie. Vanwege de lichamelijke en de psychische beperking door cognitieve achteruitgang en depressie wordt het sociale leven ernstig aangetast. De patiënt is daarnaast sterk afhankelijk van de hulp van anderen en kan uiteindelijk niet meer zelfstandig leven. De ziekte heeft ingrijpende gevolgen voor de kwaliteit van leven van de patiënt en zijn directe leefomgeving en de zorgkosten zijn hoog.

Wereldwijd lijden ongeveer 15 miljoen mensen aan Parkinson², een aantal dat in de afgelopen 5 jaar met 3 miljoen is toegenomen. De voorspelling is dat het aantal patiënten wereldwijd zal toenemen tot meer dan 25 miljoen in het jaar 2050². Momenteel krijgt in Nederland ongeveer 1 op de 22 mensen (4.5%) tijdens het leven de diagnose ZvP. De ziekte treft vooral ouderen vanaf 55 jaar. Bij ongeveer 5% van de gevallen speelt een erfelijke component een rol en begint de ziekte al op jongere leeftijd³. Echter, bij 95% van de patiënten is de oorzaak onduidelijk⁴.

De huidige behandelingen, zoals levodopa, verlichten vooral symptomen. Dergelijke behandelingen zijn erop gericht om de dopamine in het brein te verhogen, ter compensatie van de verloren zenuwcellen, maar ze stoppen of vertragen de progressie van de ziekte niet. Bovendien werkt bij sommige patiënten deze medicatie niet en neemt de effectiviteit van de medicatie in de loop van de tijd af. Veel van de medicijnen die gericht zijn op het dopaminerge systeem leiden ook tot vervelende bijwerkingen⁵. Sommige patiënten, als ze hiervoor in aanmerking komen, ondergaan een hersenoperatie met diepe hersenstimulatie ter verbetering van de symptomen, echter behandelt dit ook niet de oorzaak van de ziekte⁶. Het gevolg is dat een persoon met de ZvP uiteindelijk niet meer voor zichzelf kan zorgen en de medicatie is niet meer toereikend om de in ernst toenemende symptomen tegen te gaan.

Daarom is er dringend behoefte aan medicijnen die het afsterven van hersencellen kunnen vertragen of stoppen. Dit vraagt om neuroprotectieve of zelfs ziekte-modificerende therapieën. De oorzaak van ZvP is niet volledig bekend, echter het onderzoeksveld heeft inmiddels wel belangrijke mechanismen en risicofactoren in kaart gebracht⁷. Het ontstaan van ZvP wordt beïnvloed door een combinatie van genetische factoren (mutaties in LRRK2, SNCA en GBA)^{8,9}, maar ook omgevingsfactoren (toxines, pesticiden)⁸. Deze combinatie van factoren wijzen op een verband met mitochondriale stress, proteostase-stoornissen en neuro-inflammatie⁷. Een belangrijk mechanisme in ZvP is de pathologische ophoping van eiwitten in de substantia nigra. Deze eiwitophopingen leiden uiteindelijk tot stress voor de dopaminerge neuronen waardoor ze afsterven. Echter, hoe al deze factoren leiden tot een selectief neuronverlies in de substantia nigra en de ophoping en verspreiding van eiwitten is onduidelijk.

Een van die eiwitten die het meest ophoopt in de hersenen van een patiënt met ZvP is α -synucleïne. Daarnaast is dit eiwit ook het meest onderzocht. α -synucleïne is een eiwit dat normaal voorkomt in hersencellen, vooral in de presynaptische uiteinden, waar het betrokken is bij het transport van neurotransmitters zoals dopamine. Bij ZvP kan α -synucleïne zich verkeerd vouwen en samenklonteren tot zogenaamde oligomeren, toxische eiwitophopingen. De ophoping van α -synucleïne beschadigt mitochondriën, verstoort synaptische communicatie en leidt tot ontsteking. Uiteindelijk zorgt dit voor het afsterven van dopamine-producerende zenuwcellen in het brein, waaronder de substantia nigra.

Omdat deze toxische eiwitophopingen problemen in het brein veroorzaken zijn ze een belangrijk doelwit voor de ontwikkeling van therapieën, om de ophopingen van dit eiwit te remmen en/of af te breken. Ook wordt de overexpressie of de injectie van α -synucleïne gebruikt om de ziekte te modelleren en meer te leren over het ziekteproces.

Daarom willen we ook in dit project gebruik maken van pathologische eiwitophopingen om ZvP na te bootsen in apen, en vervolgens therapieën te testen die dit ziekteproces kunnen moduleren. Dat kan op meerdere manieren:

1. Door middel van adenovirus-geassocieerde (AAV) vectoren die deze eiwitophoping induceren in specifieke cellen in de hersenen
- OF**
2. Door middel van directe toediening van pathologische eiwitten in de specifieke hersenstructuren die zijn aangedaan bij ZvP.

Adenovirus-geassocieerde vectoren (AAVs) zijn kleine, niet-pathogene virussen die vaak worden ingezet in preklinisch en klinisch onderzoek^{10,11}. De AAVs vormen ook de basis van huidige gentherapieën voor andere ziektes in de mens en zijn zeer veilig en efficiënt gebleken. De werking van AAV-vectoren berust op hun vermogen om genetisch materiaal in specifieke cellen in te brengen. Dit genetisch materiaal wordt vervolgens opgenomen in de celkernen waar het kan worden afgelezen. AAVs kunnen zo ontworpen worden dat ze specifieke cellen induceren en dat ze specifieke (pathologische) eiwitten tot expressie brengen in het brein. Dit maakt AAVs geschikt om de pathologische processen in ZvP te modelleren in andere organismes. Momenteel worden er AAVs ontwikkeld die perifeer (in het bloed) geïnjecteerd kunnen worden en uiteindelijk de bloedhersenbarrière over kunnen steken, deze AAVs zijn echter nog niet betrouwbaar genoeg om een model mee op te zetten in nonhumane primaten (NHP)¹⁰⁻¹². Echter biedt deze aanpak wel toekomstperspectief voor het ontwikkelen van zowel diermodellen als therapieën door gebruik van AAVs op een non-invasieve manier.

Een soortgelijke aanpak is getest in andere NHP en blijkt effectief in het modelleren van een belangrijk aspect van de ziekte: de ophoping van deze pathologische eiwitten, en de afname van dopaminerge neuronen¹³⁻¹⁸. Daarnaast zijn er ook nog andere *in vivo* modellen die worden gebruikt voor ZvP. Echter berusten deze modellen niet op het modelleren van de ziekte maar maken gebruik van een chemische inductie (d.m.v. bijv. de organische verbinding MPTP) waarbij de dopaminerge neuronen afsterven door toxiciteit. Het MPTP-model is symptoomgericht en pakt niet de onderliggende oorzaak aan¹⁹. Neurotoxinmodellen zoals MPTP hebben weliswaar het voordeel van een stabiele laesie die nuttig kan zijn voor langdurige gedragsstudies, maar progressieve eiwitophopingsmodellen (m.b.v. AAVs of toxische eiwitinjecties) hebben de voorkeur voor de ontwikkeling van therapieën omdat deze modellen een prodromale fase en pathofysiologisch proces nabootsen die dicht bij de menselijke situatie en ZvP ligt. Dit maakt het mogelijk om longitudinaal zowel motorische als niet-motorische symptomen en hun onderlinge volgorde te bestuderen, wat de translatie naar de kliniek versterkt²⁰.

Tabel 1. Overzicht van huidige NHP-modellen voor de ziekte van Parkinson

Model	Voordelen	Beperkingen	Opmerkingen
MPTP ^{19,21}	- Veel gebruikt, dus er is veel wetenschappelijke kennis - Snel optredende motorische symptomen	- Niet gebaseerd op ZvP mechanismen - Veel individuele variatie - Risico op acute toxiciteit	Symptoomgericht model, niet geschikt voor het testen van ziekte-vertragende therapieën
AAV-gebaseerd ^{13 18}	- Modelleert progressieve, PD-specifieke pathologie - Brede therapeutische toepassing - Geschikt voor mechanistisch en ziekte-vertragend onderzoek	- Minder motorische symptomen - Chirurgische toediening vereist (mogelijk in de toekomst niet meer).	Uniek in het modelleren van de onderliggende ziekteprocessen; relevant voor vroege interventiestudies
Toxische eiwitinjectie (bv. oligomeren) ^{22 24}	- Directe inductie van eiwit ophoping - Verspreiding via neuronale circuits mogelijk - Kan fysiologisch relevant ophopingsproces nabootsen	- Stabiliteit en zuiverheid van het geïnjecteerde eiwit is belangrijk - Minder goed gevalideerd in NHPs	Maakt het mogelijk om ophoping en verspreiding van eiwitten te onderzoeken

		- Symptomen vaak subtiel of afwezig	
--	--	-------------------------------------	--

Ook in knaagdieren (muizen en ratten) bestaan diverse modellen voor ZvP waaronder genetische modellen (mutaties in SNCA, LRRK2, GBA, PRKN, PINK1, DJ-1, UCH-L1), neurotoxische modellen (6-OHDA, MPTP), agrochemisch (pesticiden) en inductiemodellen (injecties met eiwitten of AAVs). Al deze modellen hebben belangrijke inzichten opgeleverd, maar vertonen beperkingen op translationeel gebied doordat deze diersoorten een minder grote overeenkomst met de mens hebben²⁰. In vitro modellen, zoals organoïden en iPSC-afgeleide neuronen (eventueel met genetische risicofactoren voor ZvP), zijn waardevol voor mechanistische en screeningsstudies, maar missen systemische context²⁵ van het hele organisme. Het gebruik van NHP's is essentieel om translationele waarde te waarborgen voor therapiagebruik in de mens. Het model beschreven in dit project zal alleen ingezet worden voor therapieën die aan specifieke eisen voldoen (zie 3.4.2).

Ondanks dat er reeds modellen zijn opgezet in NHPs om ZvP te bestuderen met behulp van AAVs of eiwitinjecties, hebben deze studies weinig tot geen onderzoek gedaan naar de niet-motorische symptomen van deze aanpak²⁰. Sommige niet-motorische symptomen zijn vaak al in een vroeg stadium aanwezig, soms zelfs vóórdat de motorische klachten duidelijk worden. Dit geldt bijvoorbeeld voor depressieve klachten en verlies van geur, maar ook voor subtiele cognitieve beperkingen²⁶. Dit suggereert dat de ziekte een breder proces omvat dan alleen het verlies van dopaminerge neuronen. Steeds meer onderzoek wijst ook op een belangrijke rol voor het immuunsysteem, waarbij ontstekingsprocessen in het brein bijdragen aan de ziekteprogressie, ook al in een presymptomatisch stadium van ZvP²⁷. Deze ontstekingsprocessen zijn een reactie op de verspreiding van pathologische eiwitten naar hersengebieden zoals de prefrontale cortex en hippocampus²⁸. Deze verspreiding zorgt ook lokaal voor inflammatie, synaptische ontregeling en mitochondriale stress welke kunnen bijdragen aan cognitieve achteruitgang^{27,28}. Daarnaast kunnen de pathologische eiwitophopingen ook leiden tot directe versterking van de neurotransmitterafgifte waardoor cognitie, zoals werkgeheugen en cognitieve flexibiliteit worden aangetast.

Dit project combineert fundamenteel en translationeel onderzoek. Het fundamentele deel richt zich op het ontrafelen van mechanismen die ten grondslag liggen aan ZvP, in het bijzonder de rol van eiwitaggregatie, de verspreiding van pathologische eiwitten in het brein en de interactie met neuro-inflammatoire processen. Deze vragen worden beantwoord door neuropathologische, moleculaire en immunologische analyses bij het opzetten van het model. Het translationele of toegepaste deel bestaat uit de ontwikkeling van een betrouwbaar en reproduceerbaar NHP-model dat gebruikt kan worden voor de evaluatie van kandidaat-therapieën als laatste stap voor klinisch gebruik. Deze processen lopen parallel: de kennis die wordt opgedaan in de fundamentele analyses bij het opzetten van het model versterkt de bruikbaarheid voor translationele therapeutische toepassingen: nieuwe pathofysiologische inzichten genereren mogelijk nieuwe therapeutische aanrijpingspunten.

NHPs vormen een onmisbaar model voor het onderzoek naar ZvP²⁹ vanwege hun hoge mate van neuroanatomische en fysiologische overeenkomst met de mens. Deze overeenkomsten zijn essentieel voor de validiteit en translatie van preklinische bevindingen als laatste stap voor een klinisch wetenschappelijk onderzoek naar therapieën. Dit is noodzakelijk is om de veiligheid, werkzaamheid en mogelijke bijwerkingen van behandelingen betrouwbaar te kunnen testen voordat ze in mensen worden toegepast^{30,31}.

Reference List

1. Jellinger, K. A. Neuropathological aspects of Alzheimer disease, Parkinson disease and frontotemporal dementia. *Neurodegener Dis* **5**, 118-121 (2008). <https://doi.org/10.1159/000113679>
2. Su, D. et al. Projections for prevalence of Parkinson's disease and its driving factors in 195 countries and territories to 2050: modelling study of Global Burden of Disease Study 2021. *BMJ* **388**, e080952 (2025). <https://doi.org/10.1136/bmj-2024-080952>

- 3 Mehanna, R., Moore, S., Hou, J. G., Sarwar, A. I. & Lai, E. C. Comparing clinical features of young onset, middle onset and late onset Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* **20**, 530-534 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2014.02.013>
- 4 Gasser, T. Genetics of Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol* **18**, 363-369 (2005). <https://doi.org/10.1097/01.wco.0000170951.08924.3d>
- 5 Riederer, P. et al. Levodopa treatment: impacts and mechanisms throughout Parkinson's disease progression. *J Neural Transm (Vienna)* **132**, 743-779 (2025). <https://doi.org/10.1007/s00702-025-02893-4>
- 6 Erasmí, R., Deuschl, G. & Witt, K. [Deep brain stimulation for Parkinson's disease: timing and patient selection]. *Nervenarzt* **85**, 137-146 (2014). <https://doi.org/10.1007/s00115-013-3876-7>
- 7 Morris, H. R., Spillantini, M. G., Sue, C. M. & Williams-Gray, C. H. The pathogenesis of Parkinson's disease. *Lancet (London, England)* **403**, 293-304 (2024). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)01478-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)01478-2)
- 8 Vetchinova, A. S. et al. Mitochondrial Dysfunction in Dopaminergic Neurons Derived from Patients with LRRK2- and SNCA-Associated Genetic Forms of Parkinson's Disease. *Curr Issues Mol Biol* **45**, 8395-8411 (2023). <https://doi.org/10.3390/cimb45100529>
- 9 Smith, L. J., Lee, C. Y., Menozzi, E. & Schapira, A. H. V. Genetic variations in GBA1 and LRRK2 genes: Biochemical and clinical consequences in Parkinson disease. *Front Neurol* **13**, 971252 (2022). <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.971252>
- 10 Wang, Y., Mu, S. & Liu, F. Viral vectors in neurodegenerative diseases: immune responses and therapeutic applications. *Front Neurol* **16**, 1603125 (2025). <https://doi.org/10.3389/fneur.2025.1603125>
- 11 Li, L. et al. Advances in Recombinant Adeno-Associated Virus Vectors for Neurodegenerative Diseases. *Biomedicines* **11** (2023). <https://doi.org/10.3390/biomedicines11102725>
- 12 Huang, Q. et al. Targeting AAV vectors to the central nervous system by engineering capsid-receptor interactions that enable crossing of the blood-brain barrier. *PLoS Biol* **21**, e3002112 (2023). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002112>
- 13 Koprach, J. B., Johnston, T. H., Reyes, G., Omana, V. & Brotchie, J. M. Towards a Non-Human Primate Model of Alpha-Synucleinopathy for Development of Therapeutics for Parkinson's Disease: Optimization of AAV1/2 Delivery Parameters to Drive Sustained Expression of Alpha Synuclein and Dopaminergic Degeneration in Macaque. *PLoS One* **11**, e0167235 (2016). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167235>
- 14 Chocarro, J. & Lanciego, J. L. Adeno-associated viral vectors for modeling Parkinson's disease in non-human primates. *Neural Regen Res* **21**, 224-232 (2026). <https://doi.org/10.4103/NRR.NRR-D-24-00896>
- 15 Yang, W. et al. Mutant alpha-synuclein causes age-dependent neuropathology in monkey brain. *J Neurosci* **35**, 8345-8358 (2015). <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0772-15.2015>
- 16 Sucunza, D. et al. Glucocerebrosidase Gene Therapy Induces Alpha-Synuclein Clearance and Neuroprotection of Midbrain Dopaminergic Neurons in Mice and Macaques. *Int J Mol Sci* **22** (2021). <https://doi.org/10.3390/ijms22094825>
- 17 Rico, A. J. et al. Development and characterization of a non-human primate model of disseminated synucleinopathy. *Front Neuroanat* **18**, 1355940 (2024). <https://doi.org/10.3389/fnana.2024.1355940>
- 18 Liu, S. et al. An accelerated Parkinson's disease monkey model using AAV-alpha-synuclein plus poly(ADP-ribose). *Cell Rep Methods* **4**, 100876 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.crmeth.2024.100876>
- 19 Halliday, G. et al. No Lewy pathology in monkeys with over 10 years of severe MPTP Parkinsonism. *Mov Disord* **24**, 1519-1523 (2009). <https://doi.org/10.1002/mds.22481>
- 20 Wichmann, T., Nelson, A., Torres, E. R. S., Svenningsson, P. & Marongiu, R. Leveraging animal models to understand non-motor symptoms of Parkinson's disease. *Neurobiology of Disease* **208**, 106848 (2025). <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2025.106848>
- 21 Tang, L. et al. A primate nigrostriatal atlas of neuronal vulnerability and resilience in a model of Parkinson's disease. *Nat Commun* **14**, 7497 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-43213-2>

- 22 Vermilyea, S. C. & Emborg, M. E. alpha-Synuclein and nonhuman primate models of Parkinson's disease. *J Neurosci Methods* **255**, 38-51 (2015).
<https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.07.025>
- 23 Teil, M. et al. Cortical Lewy body injections induce long-distance pathogenic alterations in the non-human primate brain. *NPJ Parkinsons Dis* **9**, 135 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41531-023-00579-w>
- 24 Chu, Y. et al. Intrastratial alpha-synuclein fibrils in monkeys: spreading, imaging and neuropathological changes. *Brain : a journal of neurology* **142**, 3565-3579 (2019).
<https://doi.org/10.1093/brain/awz296>
- 25 Lal, R., Singh, A., Watts, S. & Chopra, K. Experimental models of Parkinson's disease: Challenges and Opportunities. *Eur J Pharmacol* **980**, 176819 (2024).
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2024.176819>
- 26 Peña-Zelayeta, L. et al. Redefining Non-Motor Symptoms in Parkinson's Disease. *Journal of Personalized Medicine* **15**, 172 (2025).
- 27 Tansey, M. G. et al. Inflammation and immune dysfunction in Parkinson disease. *Nature Reviews Immunology* **22**, 657-673 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41577-022-00684-6>
- 28 Aarsland, D. et al. Parkinson disease-associated cognitive impairment. *Nature Reviews Disease Primers* **7**, 47 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41572-021-00280-3>
- 29 Bezard, E. et al. Position paper: leveraging non-human primate (NHP) specificities to accelerate Parkinson's disease and ageing research. *NPJ Parkinsons Dis* **11**, 227 (2025).
<https://doi.org/10.1038/s41531-025-01088-8>
- 30 Tseng, C.-M. L., Faggioni, R. & Roskos, L. K. in *The Nonhuman Primate in Nonclinical Drug Development and Safety Assessment* (eds Joerg Bluemel, Sven Korte, Emanuel Schenck, & Gerhard F. Weinbauer) 359-375 (Academic Press, 2015).
- 31 Clemons, D. J., Meador, V., Weinbauer, G. F. & Wakefield, G. A. in *Nonhuman Primates in Biomedical Research* (eds Christian R. Abee, Keith Mansfield, Suzette Tardif, & Timothy Morris) 493-510 (Academic Press, 2012).

3.2 Doel

3.2.1 Beschrijf het directe en het uiteindelijke doel van het project. Beschrijf de bijdrage van het behalen van het directe doel aan het uiteindelijke doel.

- Indien het directe doel bestaat uit verschillende subdoelstellingen, benoem deze dan hier.

Het directe doel van het project is tweeledig.

Het eerste directe doel is de ontwikkeling van een NHP-diermodel voor ZvP via overmatige expressie van pathologische eiwitten in specifieke hersenstructuren. Het opzetten van een diermodel waarin deze eiwitten ophopen in specifieke hersenstructuren leidt tot een valide manier om therapieën te evalueren die deze pathologische processen kunnen moduleren. Daarnaast biedt de ontwikkeling van het diermodel mogelijkheden om fundamenteel onderzoek te doen naar pathologische eiwitophoping in het brein, hoe deze eiwitophoping zich verspreidt, wat voor immunologische reacties dit voortbrengt in het brein en op welke manier dit leidt tot selectief verlies van zenuwcellen.

Het tweede directe doel is het translationele onderzoek, om nieuwe therapieën in dit model te evalueren. De effectiviteit van therapieën wordt onderzocht op basis van de primaire uitkomstparameters: ophoping van pathologische eiwitten, verlies van dopaminerge neuronen. Daarnaast worden ook andere aspecten onderzocht zoals het immuunsysteem en indien mogelijk motorische en cognitieve achteruitgang.

Het uiteindelijke doel is het vergroten van de kennis van pathofysiologische processen in ZvP en het verkrijgen van preklinisch bewijs voor een effectieve en veilige ziekte modificerende therapie voor patiënten met ZvP. Daarmee willen we bijdragen aan de voorbereiding van toekomstige klinische studies

en de ontwikkeling van nieuwe behandelopties voor deze patiënten ter verbetering van de kwaliteit van leven van mensen met ZvP.

3.2.2 Hoe wordt de haalbaarheid van het directe doel gewaarborgd?

De haalbaarheid van het directe doel kan worden gewaarborgd doordat het project wordt ondersteund:

- Voor dit project wordt er samengewerkt met partijen die ervaring hebben met dergelijke virale vectoren in kleinere diermodellen. Daarnaast wordt gebruik gemaakt van de bestaande kennis uit literatuur op het gebied van virale vectoren.
- Bij het instituut is er uitgebreide kennis en ervaring over het gedrag van apen, en het uitvoeren van experimentele procedures op het gebied van wetenschappelijk onderzoek.
- Voor het opzetten van het model maken we o.a. gebruik van nieuwe technieken zoals virale vectoren waarvan de werkzaamheid in kleinere diermodellen eerder al is bewezen. Voor de complexe medische ingrepen zoals de toediening van de vector wordt gebruik gemaakt van de ervaring van medewerkers op het gebied van vergelijkbare chirurgische ingrepen.
- Voor het analyseren van het gedrag van de dieren en de ontwikkeling van neuropathologie wordt gebruik gemaakt van de ervaring van goed getrainde medewerkers (diertrainers en diervverzorgers) bij ons instituut en de samenwerkingspartners.

3.2.3 Is voor de uitvoering van dit project andere wet- en regelgeving van toepassing die een invloed zou kunnen hebben op het welzijn van de dieren en/of de haalbaarheid van het directe doel?

☒ Nee

☐ Ja > Geef aan welke wet- en regelgeving van toepassing is en beschrijf de effecten daarvan op het welzijn van de dieren en de haalbaarheid van het project.

3.3 Belang

3.3.1 Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelen.

ZvP behoort tot een van de snelst groeiende neurodegeneratieve aandoeningen wereldwijd, met grote impact op de kwaliteit van leven van patiënten en hun omgeving. De medische en maatschappelijke last is aanzienlijk en zal de komende decennia verder toenemen door de vergrijzing. Er bestaat op dit moment geen behandeling die het ziekteproces daadwerkelijk vertraagt of stopt. Er is dan ook dringend behoefte aan ziekte-modificerende therapieën die de onderliggende neurodegeneratieve processen beïnvloeden.

De ontwikkeling van dergelijke therapieën vereist betrouwbare en reproduceerbare diermodellen die het ziekteverloop van ZvP zo goed mogelijk nabootsen, inclusief de eiwitophoping, progressieve neuronale uitval, en ontstekingsreacties in het brein. NHPs vormen in dit opzicht een onmisbare schakel vanwege hun hoge mate van overeenkomst met de mens in termen van neuroanatomie, cognitie, en immuunreacties als laatste preklinische stap voor nieuwe therapieën.

Wetenschappelijk belang: Het project biedt een platform voor het bestuderen van fundamentele ziekteprocessen, zoals eiwitophoping, neuronale degeneratie en neuroinflammatie, in een systeem dat dicht bij de mens staat dan knaagdiermodellen. Dit versterkt de betrouwbaarheid van gevonden preklinische inzichten. Deze resultaten zijn breed relevant voor het internationale onderzoeksveld, omdat er nog veel openstaande vragen rond pathogenese en therapieontwikkeling zijn. Om dit belang te dienen worden resultaten actief gepubliceerd in wetenschappelijke tijdschriften en gepresenteerd op congressen. Op die manier worden de inzichten toegankelijk voor onderzoekers wereldwijd en wordt de waarde van het project verder vergroot. Een dergelijk model kan mogelijk in de toekomst ook worden omgezet naar andere ziektes waarbij eiwitophoping een grote rol speelt zoals de ziekte van Alzheimer, een andere ernstige neurodegeneratieve ziekte waar momenteel nog geen medicijnen voor zijn.

Maatschappelijk belang: Door het testen van nieuwe medicijnen voor ZvP die daadwerkelijk aangrijpen op een van de ziekte-inducerende mechanismes, zoals eiwitophoping, is er een grotere kans van slagen van translatie van medicijnen. Nieuwe behandelingen voor ZvP zal leiden tot een verbetering van de kwaliteit van leven voor patiënten en hun directe omgeving, minder lijden, en lagere zorgkosten. Wereldwijd zijn er honderdduizenden mensen die baat hebben bij dergelijke therapieën.

Daarnaast levert dit project waardevolle kennis op voor het onderzoeksveld van neurodegeneratieve ziekten, waaronder de ziekte van Alzheimer en andere vormen van dementie, die vergelijkbare pathologische mechanismen delen (eiwitophoping).

3.3.2 Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden wat hun belang is.

De proefdieren: Voor de proefdieren geldt dat zij geen direct voordeel ondervinden van dit onderzoek. Hun belang ligt er daarom in dat het ongerief dat zij ervaren tot een minimum wordt beperkt. Hoewel het model noodzakelijkerwijs matig ongerief met zich meebrengt, bijvoorbeeld door de ontwikkeling van ziekteverschijnselen en door bepaalde procedures, worden maatregelen genomen om de duur en de intensiteit van dit ongerief zo beperkt mogelijk te houden. De dieren worden gemonitord, humane eindpunten zijn vastgesteld en waar nodig wordt ingegrepen om te voorkomen dat grenzen van welzijn worden overschreden.

Naast deze praktische maatregelen erkennen wij de intrinsieke waarde van de dieren en respecteren wij hun fysieke en biologische integriteit. Dit doen we door zorgvuldig afgewogen procedures te hanteren en de 3V's (vervanging, vermindering, verfijning) toe te passen.

Eigen instituut: voert het project uit en valideert het model. Dit versterkt de wetenschappelijke positie van het instituut in translationeel primatenonderzoek en draagt bij aan de ontwikkeling van ethisch verantwoorde en maatschappelijk relevante diermodellen voor neurodegeneratieve ziekten.

De aanvrager: de aanvragers van het project voeren het project uit en zullen dit project leiden. Het project stelt de aanvragers in staat om hun expertise verder te ontwikkelen en hun wetenschappelijke positie binnen het onderzoeksveld te versterken. De aanvragers doen met dit project direct kennis en ervaring op over de ontwikkeling van een NHP-model voor ZvP, daarnaast zullen zij kennis vergaren over de pathofysiologische processen bij ZvP en de toepassing van nieuwe therapieën.

Academische partners: Universiteiten en onderzoeksinstituten verkrijgen toegang tot een geavanceerd Parkinsonmodel en bijbehorende biomaterialen. Het model ondersteunt fundamenteel onderzoek naar ziekteprocessen en het ontwikkelen van biomarkers en therapieën, en bevordert samenwerking in het internationale neurobiologisch onderzoek.

Industrie: Biotech- en farmaceutische bedrijven kunnen het model gebruiken om de veiligheid en effectiviteit van nieuwe therapieën te testen. Daarnaast genereert het project ook kennis over de werking van virale vectoren (werkzaamheid, expressie, verspreiding, veiligheid). Deze kennis kan ook ingezet worden voor het ontwikkelen van gentherapeutische behandelingen en versnelt mogelijk de vertaalslag van preklinisch onderzoek naar de kliniek.

Patiëntengroepen: Patiënten zijn gebaat bij de ontwikkeling van therapieën die het ziekteproces vertragen of stoppen. Dit project draagt bij aan betere behandelopties, hogere levenskwaliteit, langere zelfstandigheid en minder belasting voor patiënten en mantelzorgers.

3.4 Strategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project. Besteed aandacht aan de eventuele fasering in de uitvoering en de samenhang. Vermijd eventuele mijlpalen, keuzemomenten en besliscriteria.

Het project bestaat uit drie opeenvolgende en inhoudelijk samenhangende fasen, die elk bijdragen aan het uiteindelijke doel: het leveren van wetenschappelijke data voor de verdere ontwikkeling van de translatie van therapieën voor ZvP naar de kliniek. Hieronder een algemene beschrijving van de bijlages, voor verdere details zie de uitwerking in de bijlages.

Fase 1: Ontwikkeling Parkinsonmodel in nonhumane primaten (Bijlage 1):

In de eerste fase wordt een Parkinsonmodel opgezet in resusapen (*Macaca mulatta*) en/of java-apen (*Macaca fascicularis*). Het instituut beschikt over ruime ervaring met beide diersoorten en heeft de faciliteiten en expertise om beide soorten op een verantwoorde wijze in te zetten. In de literatuur zijn succesvolle inductiemodellen beschreven voor beide soorten. Door de beschikbaarheid van beide diersoorten kan in de loop van het project een weloverwogen keuze worden gemaakt, afhankelijk van de ervaringen die worden opgedaan tijdens de ontwikkeling van het model, de specifieke onderzoeksvraag en de praktische omstandigheden. Bij deze afweging wordt rekening gehouden met het feit dat bepaalde doelmoleculen (targets) waar nieuwe therapieën op aan zullen grijpen, in de ene diersoort mogelijk wel aanwezig of functioneel vergelijkbaar kunnen zijn, terwijl ze in de andere ontbreken. Omdat de aanwezigheid en herkenbaarheid van deze targets essentieel zijn voor de validiteit van het model, biedt de beschikbaarheid van twee mogelijke soorten de flexibiliteit om steeds de meest geschikte diersoort te selecteren voor het onderzoek. Daarnaast spelen ook gedragsmatige en sociale eigenschappen een rol in de uiteindelijke keuze. Resusapen worden veel gebruikt in complex gedragsonderzoek. Dit maakt hen geschikt voor het uitvoeren van cognitieve en motorische testen die relevant zijn bij het in kaart brengen van subtiele symptomen van Parkinson. Java-apen daarentegen worden vaak als sociaal flexibeler en minder conflictgevoelig beschouwd. Hun kleinere lichaamsgrootte kunnen praktische voordelen bieden bij hantering, transport en bepaalde medische procedures. Door beide diersoorten beschikbaar te houden, kan het onderzoek optimaal worden afgestemd op de specifieke vragen van de verschillende deelstudies die uitgewerkt zullen worden in de werkprotocollen en ter goedkeuring worden gestuurd naar de IvD. Dit zorgt voor flexibiliteit, wetenschappelijke robuustheid en een betere aansluiting bij de variatie die ook bij mensen aanwezig is.

Het model kan op twee manieren geïnduceerd worden:

1. Het injecteren van een virale vector die leidt tot de inductie van pathologische eiwitophoping in de bovengenoemde specifieke hersengebieden en hersencellen.
- OF**
2. Een injectie met eiwitten die leidt tot de inductie van pathologische eiwitophoping in de bovengenoemde specifieke hersengebieden en hersencellen.

Voor de virale vectorbenadering is aangetoond dat expressie van pathologische eiwitten in primaten leidt tot progressieve aggregatie, neuronverlies en motorische stoornissen die de ziekte van Parkinson nabootsen¹³⁻¹⁸. Voor de eiwitinjectie is beschreven dat toediening in primaten pathologische eiwitophopingen en verspreiding naar verbonden hersengebieden veroorzaakt²²⁻²⁴ (Tabel 1, 3.1). Via stereotactische injectie van virale vectoren of pathologische eiwitten in de hersenen wordt de karakteristieke neuropathologie van ZvP geïnduceerd. Deze fase richt zich op het ontwikkelen en valideren van het model.

De primaire uitkomstparameters zijn:

1. Het ontwikkelen van overmatige expressie van pathologische eiwitten in cellen die zijn geïnduceerd door de virale vector **OF** eiwitophoping als gevolg van de injectie van pathologische eiwitten
2. Afname van dopaminerge neuronen

De secundaire uitkomstparameters zijn:

3. Het ontstaan van inflammatie in het brein
4. Motorische veranderingen en/of cognitieve achteruitgang

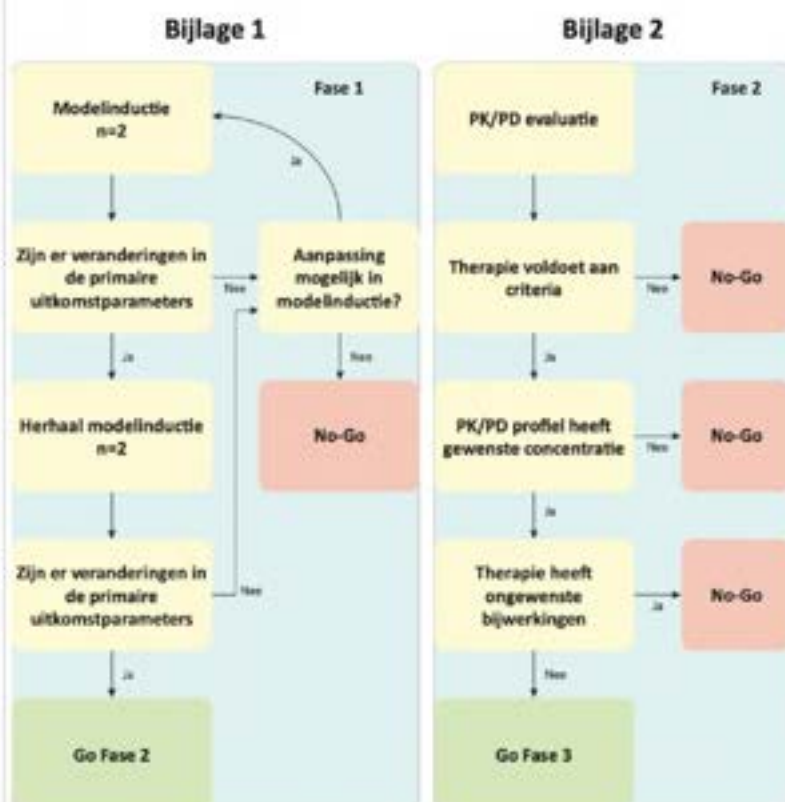
Op basis van tussentijdse analyses naar de primaire uitkomstparameters wordt besloten of het model voldoende robuust is om in te zetten voor therapeutisch onderzoek. Hierbij zijn de primaire parameters het aantonen van de (geïnduceerde) eiwitten en de afname van dopaminerge neuronen.

Go/No-Go: Indien er geen significante veranderingen zijn in de primaire uitkomstparameters kunnen eventuele therapieën niet getest worden op werkzaamheid (bijlage 3), en is er geen aanleiding om therapieën te testen op farmacokinetica (Bijlage 2). In dit geval zijn er elementen die aangepast kunnen worden in de opzet van het model (komt ter sprake in bijlage 1) om een robuust model te ontwikkelen voordat therapeutisch onderzoek gedaan kan worden.

Fase 2: Farmacokinetica van therapieën voor Parkinson (Bijlage 2):

In de tweede fase wordt de farmacokinetiek (PK) en -dynamiek (PD) van kandidaat-therapieën onderzocht. Deze studies zijn essentieel voor het vaststellen van de juiste dosering, toedieningsroute en werkingsduur. Daarnaast worden op specifieke tijdpunten bloedafnames (en eventueel CSF-afnames) verricht onder sedatie. Hiermee worden circulerende concentraties en biomarkers van activiteit of toxiciteit in kaart gebracht. Dit vormt de basis voor het bepalen van de dosering en toedieningsroute van de therapie voor evaluatie in het diermodel.

Go/No-Go: Wanneer de PK/PD-profielen onvoldoende aanwijzingen geven dat de therapie de beoogde concentraties bereikt, of wanneer er duidelijke aanwijzingen zijn voor toxiciteit of ongunstige bijwerkingen, wordt niet verdergegaan met het testen van de therapie voor gebruik in het model voor ZvP (Bijlage 3).



Figuur 1. Samenvattend stroomschema van Go/No-Go keuzemomenten.

Fase 3: Evaluatie Therapieën voor Parkinson (Bijlage 3):

In deze derde fase worden therapieën geëvalueerd in het ZvP-model. Doel is om de therapeutische werking van de therapie te beoordelen op basis van veranderingen in de uitkomstparameters. De keuze van het model en de diersoort wordt gebaseerd op wetenschappelijke literatuur, het werkingsmechanisme van de therapie en praktische uitvoerbaarheid. Beide modelinducties bieden hun eigen voor- en nadelen (Tabel 1, 3.1) en worden afhankelijk van de te evalueren therapie ingezet.

Het doel van de te onderzoeken therapieën zal zijn om pathologische symptomen en kenmerken (zie uitkomstparameters) van ZvP te voorkomen, beperken of om te keren.

De primaire uitkomstparameters zijn:

1. Het ontwikkelen van overmatige expressie van pathologische eiwitten in cellen die zijn geïnduceerd door de virale vector **OF** eiwitophoping als gevolg van de injectie van pathologische eiwitten
2. Afname van dopaminerge neuronen

De secundaire uitkomstparameters zijn:

3. Het ontstaan van inflammatie in het brein
4. Motorische veranderingen en/of cognitieve achteruitgang

Deze fase is cruciaal om vast te stellen of een therapie het ziekteverloop bij ZvP kan vertragen, stoppen of omkeren. De evaluatie vindt longitudinaal plaats, zodat ook het beloop van therapeutische effecten over tijd kan worden gemonitord.

3.4.2 Onderbouw de gekozen strategie.

Ontwikkeling Parkinson model in nonhumane primaten (Bijlage 1):

Deze bijlage is gericht op het ontwikkelen van een model voor ZvP in resus- en java-ape. Dit model is noodzakelijk voor het testen van nieuwe therapieën, doordat het de karakteristieke eiwitophopingen en neuronale schade die bij ZvP horen, nabootst. Aan het begin van de studie wordt een MRI gemaakt om de hersenen van de dieren in beeld te brengen en de injectie van een virale vector en/of eiwitten in te plannen. De ziekte wordt vervolgens geïnduceerd via injectie van een virale vector of pathologische eiwitten in het brein door middel van een operatie onder anesthesie. Tijdens de studie worden hersenbeelden (PET-CT), gedragsveranderingen, motorische symptomen, bloed- en hersenvochtwaarden, eiwitexpressie en neuropathologie onderzocht. De primaire uitkomstparameters zijn eiwitophoping en dopaminerge neuronafbraak. Er worden voor bijlage 1 maximaal 24 volwassen dieren ingezet. Het verwachte ongerief wordt als 'matig' geclassificeerd. Dieren krijgen adequate pijnstilling en postoperatieve zorg. Potentiële welzijnsaantastingen zoals operatiestress, sedatie-effecten en het ontwikkelen van Parkinsonsymptomen worden actief gemonitord. De proef is ontworpen met aandacht voor vervanging, vermindering en verfijning, inclusief gefaseerde uitvoering, en inzet van moderne neurochirurgische technieken.

Farmacokinetica van therapieën voor Parkinson (Bijlage 2):

In deze studie wordt de farmacokinetiek (PK) en eventueel farmacodynamiek (PD) van nieuwe therapieën onderzocht in NHPs. Door middel van herhaalde bloedafnames wordt de concentratie van de toegediende stoffen gemeten. Ook kan eventueel hersenvocht worden geanalyseerd om na te gaan of een stof de bloed-hersenbarrière passeert. Verschillende toedieningsroutes worden toegepast, afhankelijk van de aard van de therapie. Bij elk dier dient de nulwaarde als eigen controle, wat het aantal benodigde dieren reduceert. De studie kan sequentieel worden uitgevoerd met oplopende doseringen per dier. Er worden voor bijlage 2 maximaal 36 volwassen dieren ingezet. Het verwachte ongerief wordt als 'matig' ingeschat. Bijwerkingen en welzijn worden zorgvuldig gemonitord. De PK/PD-studies zijn essentieel om veilige en effectieve doseringen te bepalen vóór (pre)klinische toepassing.

Evaluatie Therapieën voor Parkinson (Bijlage 3):

Deze dierproef richt zich op het testen van therapieën voor ZvP in NHPs. Het doel is om te onderzoeken of deze therapieën pathologische processen zoals eiwitophoping, neurodegeneratie, neuroinflammatie, motorische achteruitgang en cognitieve problemen kunnen voorkomen, beperken of omkeren. De therapieën worden geëvalueerd in resus- en java-ape, die geïnjecteerd zijn met een virale vector of pathologische eiwitten die pathologie en symptomen behorend bij ZvP opwekken (Bijlage 1). Daarnaast zal er een controlegroep zijn om de effecten van de therapie te onderscheiden van het geïnduceerde ziekteproces. Het gebruiken van een controlegroep zal ook referentiewaarden opleveren voor de primaire uitkomstparameters.

De toediening van de therapieën kan via verschillende routes plaatsvinden. De exacte route, frequentie en dosering zijn afhankelijk van de specifieke eigenschappen van de therapie en worden per studie afgestemd,

indien nodig op basis van eerdere PK/PD-gegevens (voor details zie Bijlage 2/3). Tijdens het verloop van de studies wordt bloed en mogelijk hersenvocht afgenomen om effecten op biologische en immunologische processen te monitoren.

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

1. Een medicijn mag niet toxisch zijn dat het ernstige nevenwerkingen, die sterker invaliderend zijn dan ZvP, veroorzaakt. Vóórdat deze in het aapmodel worden gebruikt moet zij eerst uitgebreid *in vitro* (celkweek) of in kleine proefdieren getest zijn op de afwezigheid van toxiciteit.
2. De therapie is ontwikkeld voor een humaan doel/target molecuul, maar zal ook in de resus- en java- apen hetzelfde target molecuul moeten herkennen.
3. De werkzaamheid van een therapie moet eerst uitgebreid getest zijn *in vitro* of in kleine proefdieren alvorens deze getest kan worden in NHPs. Hierbij moet de therapie een aangetoond positief effect hebben op een pathofysiologisch proces bij ZvP.
4. De therapie is zo ver ontwikkeld dat het evalueren van de therapie in NHPs een laatste stap voor klinische translatie is.
5. Het beoogde target moet vanuit wetenschappelijk oogpunt een bijdrage leveren over de kennis van ZvP. Het onderzoek van een behandelmethode moet daarom het inzicht over het werkingsmechanisme dat ten grondslag ligt aan ZvP vergroten.
6. De therapie is specifiek voor primaten waardoor het niet in een ander diersoort kan worden getest. Of de therapie kan niet afdoende worden getest in een ander diersoort vanwege beperkte validiteit in deze diersmodellen.

De primaire uitkomstparameters zijn de mate van dopaminerge neuronaafbraak, eiwitophoping. De secundaire uitkomstparameters zijn inflammatie in het brein, gedragsveranderingen en cognitieve achteruitgang. Er worden voor bijlage 3 maximaal 72 volwassen dieren ingezet. Statistische poweranalyses en sequentiële studieopzetten worden toegepast om het aantal dieren te minimaliseren. Het verwachte ongerief wordt als 'matig' geclassificeerd. Dieren krijgen adequate pijnstilling en postoperatieve zorg. Potentiële welzijnsaantastingen zoals operatiestress, sedatie-effecten en het ontwikkelen van Parkinsonsymptomen worden actief gemonitord. Daarnaast zijn humane eindpunten gedefinieerd om onnodig en ernstig ongerief te voorkomen.

Het welzijn van de dieren wordt gewaarborgd door de gefaseerde opzet en, tot een minimum beperkt door gebruik van dieren als hun eigen controle. Het gebruik van de dieren wordt verder gemaximaliseerd door opslag van weefsels in een biobank. Verfijning wordt toegepast via moderne neurochirurgie, nauwkeurige injecties, gedragsmonitoring en minimale invasieve technieken.

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

Volgnummer	Titel bijlage Beschrijving dierproef
1	Ontwikkeling Parkinsonmodel in nonhumane primaten
2	Farmacokinetiek/dynamiek voor therapieën t.b.v. Parkinson
3	Evaluatie therapieën in Parkinsonmodel
4	
5	
6	
7	
8	
9	



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 in de 'Toelichting op de te gebruiken formulieren voor de aanvraag van een projectvergunning' op de website www.centralecommissiedierproeven.nl
- Of neem telefonisch contact op (0800-789 0789).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

5.1.2.e

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

5.1.2.e

- 1.3 Vul het volgnummer en de titel van de dierproef in.

Volgnummer Titel dierproef

1

Ontwikkeling Parkinsonmodel in nonhumane primaten

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.3 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 de ontwikkeling van een diermodel in nonhumane (NHP) primaten voor de neurodegeneratieve ziekte van Parkinson (ZvP). Hierbij wordt gebruik gemaakt van resus- en java-ape (*Macaca Mulatta* en *Macaca Fascicularis*). De ontwikkeling van een diermodel voor ZvP is essentieel om nieuwe therapieën en medicijnen te onderzoeken. Bij ZvP vindt er een pathologische ophoping van eiwitten plaats in het brein waardoor specifieke cellen (dopaminerge neuronen) in het brein afsterven. Voor het fundamentele en toegepaste onderzoek zal er bij de dieren een injectie plaatsvinden in de specifieke hersengebieden (zoals bijvoorbeeld de substantia nigra en het striatum) die zijn aangedaan bij ZvP, die uiteindelijk zal leiden tot ophoping van deze pathologische eiwitten.

Dit kan op twee manieren bereikt worden:

1. Het injecteren van een virale vector die leidt tot de inductie van pathologische eiwitophoping in de bovengenoemde specifieke hersengebieden en hersencellen.

OF

2. Een injectie met eiwitten die leidt tot de inductie van pathologische eiwitophoping in de bovengenoemde specifieke hersengebieden en hersencellen.

Door gebruik te maken van deze strategie van het induceren van pathologische eiwitophoping zoals dit ook gebeurt in de hersenen van mensen met ZvP kan dit diermodel uiteindelijk toegepast worden om effecten van therapieën voor de behandeling van ZvP te ontwikkelen en te onderzoeken (bijlage 3).

Tijdens deze studie zal er worden gekeken naar de kinetiek en/of dynamiek van de virale vector en eiwitten. Hierbij wordt er gekeken naar de distributie van de vector of de eiwitten in het brein, dosis-expressie correlatie en de immuunrespons. In het geval van dynamiek kan er o.a. worden gekeken naar hematologie en

bloedchemie, celtypes in bloed en cytokineproductie. Daarnaast wordt er gekeken naar het ontwikkelen van pathologie en klinische symptomen behorend bij ZvP (zie hieronder).

De primaire uitkomstparameters zijn:

1. Het ontwikkelen van overmatige expressie van pathologische eiwitten in cellen die zijn geïnduceerd door de virale vector **OF** eiwitophoping als gevolg van de injectie van pathologische eiwitten
2. Afname van dopaminerge neuronen

De secundaire uitkomstparameters zijn:

3. Het ontstaan van inflammatie in het brein
4. Motorische veranderingen en/of cognitieve achteruitgang

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.

In het kort zal de studie bestaan uit het injecteren van een virale vector of eiwitten die ophoping van pathologische eiwitten induceert in het brein. Waarna door gebruik van meerdere technieken (histologie, PET-CT, gedragstesten) het ontstaan van symptomen en pathologie behorend bij ZvP zullen worden gemeten.

Voor het visualiseren van de hersenen zullen de dieren een MRI ondergaan. Hiervoor worden zij getransporteerd naar een gespecialiseerde faciliteit (buiten het eigen instituut) waar een geschikte MRI-scanner aanwezig is. Om stress zoveel mogelijk te beperken, worden de dieren vooraf getraind in het lopen naar en verblijven in een transportkooi. Tijdens de scan bevinden de dieren zich onder sedatie, zodat ze comfortabel en onbeweeglijk blijven liggen. De eerste MRI vindt plaats vóór de operatie en is bedoeld om het brein in beeld te brengen en de exacte locatie van hersengebieden te bepalen en de injectieplanning vast te stellen. Na het transport is er een acclimatisatieperiode zodat de dieren weer tot rust kunnen komen. Optioneel is om na de operatie eventueel een tweede hersenscan uit te voeren met een lagere resolutie (1.5T), op het eigen terrein zonder transport, om het toegepaste naaldtraject van de injectie te evalueren.

Aan het begin van de studie vindt vervolgens een stereotactische injectie in de hersenen plaats. Deze procedure gebeurt onder narcose, met monitoring van de vitale functies. Omdat er zeer nauwkeurig moet worden toegediend in de specifieke hersenstructuren, wordt het hoofd van het dier tijdens de operatie gefixeerd in een stereotactisch frame. Het stereotactisch frame kan op een niet-invasieve manier geplaatst worden op de oren en de bovenkaak. De eerder gemaakte MRI-opnamen dienen als leidraad om het juiste traject naar de doellocatie te bepalen en de injectie met maximale precisie uit te voeren, hierbij wordt ook gebruik gemaakt van geavanceerde software en apparatuur die ontwikkeld zijn voor hersenchirurgie.

Afhankelijk van de onderzoeksvraag kan de inductie van pathologische eiwitophoping zowel unilateraal als bilateraal plaatsvinden. Bij unilaterale inductie worden de eiwitten of vectoren slechts in één hersenhelft toegediend. Dit maakt het mogelijk de contralaterale zijde als interne controle te gebruiken, waardoor variabiliteit wordt verminderd, het aantal benodigde dieren kan worden beperkt en de motorische symptomen doorgaans milder blijven. Hiermee wordt ongerief voor de dieren gereduceerd en sluit het model tevens aan bij de vroege, vaak asymmetrische manifestatie van de ziekte van Parkinson bij de mens. Een nadeel van deze aanpak is dat de progressie minder representatief kan zijn voor gevorderde stadia van de ziekte, waarbij beide hersenhelften zijn aangedaan. Ook kan compensatie door de intacte zijde het klinisch beeld deels maskeren, wat de interpretatie van gedrags- en motorische uitkomsten kan bemoeilijken.

Als er een virale vector geïnjecteerd wordt kunnen de geïnduceerde cellen eventueel getraceerd worden m.b.v. een green fluorescent protein (GFP) dat wordt ingebouwd in de virale vector, hierdoor zullen de cellen die de vector opnemen GFP produceren en fluorescent worden. Dit is ter initiële controle van de virale vector om postmortem te bepalen of de vector de juiste cellen bereikt en zal niet gebruikt worden voor het verder evalueren van het model of het onderzoeken van therapieën (bijlage 3) om de effecten van GFP op het diermodel uit te sluiten.

Gedurende de studie zullen op verschillende momenten bloed- en hersenvochtafnames (CSF) worden uitgevoerd om het effect van de pathologische eiwitten op biologische en immunologische processen te evalueren. Deze afnames vinden plaats onder sedatie, waarbij tegelijkertijd het lichaamsgewicht wordt gemeten om de algemene gezondheidstoestand van het dier te monitoren en er een mogelijkheid is tot PET-CT om pathologie te visualiseren. De frequentie van het aantal bloed- en CSF-afnames varieert tijdens de

studie en is afhankelijk van de onderzoeksvragen en zal in overleg met de IvD per studie worden afgestemd, met een maximum van één afname per 24 uur. Daarbij wordt voor bloed strikt rekening gehouden met de richtlijn van maximaal 0,7% van het lichaamsgewicht per afname, en niet meer dan 1% per maand. Voor CSF-afnames geldt de richtlijn van een maximum van 2ml per dag. Indien er een periode optreedt waarop de dieren meerdere dagen achter elkaar gesedeerd worden voor bloedafnames, zullen de dieren extra voeding krijgen in de vorm van sondevoeding of brokkenballen. Het totaal aantal bloedafnames is ook afhankelijk van de duur van de studies, maar zal in de regel in het begin van een studie ongeveer wekelijks zijn, en in de langere termijn (>3 maanden) maandelijks. Alle experimentele handelingen zullen zoveel mogelijk gecombineerd worden tijdens een enkele sedatie om ongerief te besparen. De dieren zullen maximaal 12 maanden gevolgd worden na het induceren van het model, maar in de praktijk worden zij doorgaans 3–4 maanden na inductie gevolgd. Naar verwachting is deze periode voldoende om de eerste effecten van de inductie in kaart te brengen. Binnen dit tijdsbestek is het mogelijk om zowel de eerste neuropathologische veranderingen, zoals ophoping van pathologische eiwitten en verlies van dopaminerge neuronen te evalueren.

Om cognitieve en motorische veranderingen bij de dieren waar te nemen als gevolg van de pathologische eiwitten en de daardoor ontstane pathologie, zullen de dieren worden geobserveerd en worden er gedragstesten ingezet. Bijvoorbeeld, de cognitieve symptomen kunnen worden geëvalueerd met behulp van de eXperimental Behaviour Interface (XBI). Dit is een module die aan de thuiskooi kan worden bevestigd, waardoor het dier op vrijwillige basis cognitieve taken kan uitvoeren¹. Het systeem is zodanig ontworpen dat de dieren cognitieve taken uit kunnen voeren zonder sociale separatie en zonder voedsel- of waterrestrictie. Het uitvoeren van taken maakt deel uit van de dagelijkse verrijking en gaat derhalve niet gepaard met ongerief. De belangrijke cognitieve domeinen die onderzocht worden zijn: werkgeheugen, aandacht en flexibiliteit. Dit is mogelijk met twee verschillende taken: de delayed-match-to-sample taak en object reversal learning taak. Beide taken zijn gevoelig voor cognitieve veranderingen. In de delayed Match-to-Sample-taak wordt het werkgeheugen getest door het dier eerst een voorbeeldstimulus (bijv. een afbeelding) te tonen, gevolgd door een korte vertraging, waarna het dier de juiste stimulus uit meerdere opties moet herkennen en aanraken. In de Object Reversal Learning-taak leert het dier eerst een eenvoudige stimulus-responsregel (bijv. object A = beloning, object B = geen beloning) en moet vervolgens leren dat deze regel plotseling wordt omgedraaid. De snelheid en flexibiliteit waarmee het dier deze verandering oppikt, geven inzicht in cognitieve flexibiliteit, impulscontrole en het aanpassingsvermogen. De XBI maakt het ook mogelijk om subtiele motorische symptomen te meten in de vorm van reactietijd en precisie. Bovendien zijn deze taken relevant voor ZvP doordat ze afhankelijk zijn van de functie van dezelfde gebieden die zijn aangedaan in ZvP. Daarnaast ontvangen de dieren ook verrijking in de vorm van voerpuzzels, het oplossen van deze voerpuzzels kan ook worden gemonitord waardoor er extra informatie over cognitieve vaardigheden gemeten kan worden. Dergelijke testen maken het mogelijk om subtiele veranderingen te meten in cognitie en motorische vaardigheden, die mogelijk af zullen nemen als gevolg van de toename van de eiwitophopingen en afname in dopaminerge neuronen. De motorische veranderingen kunnen gescoord worden met behulp van een bestaand scoringsysteem (Kurlan score, Appendix 1) dat gebaseerd is op het scoringsysteem wat in de kliniek ook gebruikt wordt voor motorische symptomen van patiënten met ZvP en dat is aangepast voor gebruik in NHPs². Over het algemeen worden er geen ernstige motorische symptomen verwacht, maar zal in het begin van de studie de frequentie van scoring hoger zijn (wekelijks), om progressie zorgvuldig te monitoren. Op basis van de ziekteprogressie tijdens het opzetten van het model kan er geëvalueerd worden of deze frequentie van scoren nodig is voor een langere termijn studie (>3 maanden) of aangepast kan worden. Een eerdere longitudinale studie heeft laten zien dat 18 maanden na injectie van een virale vector voor pathologische eiwitten er geen ernstige motorsymptomen zijn voorgekomen³, in deze studie werden de dieren één keer in de 6 maanden gescoord op klinische motorsymptomen m.b.v. de Kurlan score, en is de gecombineerde score van motorsymptomen niet hoger geweest dan 8 van de maximale 30 punten (licht parkinsonisme). Daarnaast zullen de dieren maximaal 12 maanden gevolgd worden na de operatie in de huidige studie-opzet. Naast de dagelijkse observatie door getrainde diervverzorgers worden de dieren ook dagelijks geobserveerd voor motorische symptomen. Indien diervverzorgers afwijkingen observeren bij de dagelijkse observatie wat betreft motorsymptomen kan er extra gebruik gemaakt worden van de klinische scoring voor Parkinsonsymptomen (Kurlan score, Appendix 1).

Aan het eind van de studie zullen de dieren worden gedood en zullen de primaire uitkomstparameters worden geëvalueerd op basis van de afgenomen monsters en weefsels. Bloed en CSF wordt afgenomen, geanalyseerd en opgeslagen. De hersenen en andere organen worden uitgenomen volgens een strikt necropsieprotocol en

er zullen zoveel mogelijk weefsels opgeslagen worden in de biobank van het instituut. Vervolgens zullen alle relevante weefsels en structuren, bloed en CSF onderzocht worden op pathologie.

Tabel. Overzicht procedures, frequenties, duur en ongerief.

Handeling/procedure/ symptoom	Basisfrequentie	Duur per handeling	Omschrijving / onderbouwing	Mate van ongerief
Bloedafnames	Eerste 3 maanden: 1× per week. Daarna: 1× per maand. Max. 1× per 24 uur indien noodzakelijk.	± 30 min. incl. sedatie	Kortdurend prikongemak; uitgevoerd onder sedatie en volgens richtlijnen (max. 0,7% lichaamsgewicht per keer).	Licht
CSF-afnames	Eerste 3 maanden: 1× per week. Daarna: 1× per maand. Max. 1× per 24 uur indien noodzakelijk.	± 20 min. incl. sedatie	Kortdurend prikongemak; uitgevoerd onder sedatie en volgens richtlijnen (max. 2ml per dag/keer)	Licht
MRI	1× vóór de operatie.	± 60-120 min. incl. transport en sedatie	Noodzakelijk voor planning en evaluatie van stereotactische injecties.	Matig (door transport + sedatie)
PET-CT	Gekoppeld aan sedaties voor bloed/CSF-afnames.	± 60 min. incl. sedatie	Voorkomt extra sedatiemomenten. Nodig voor longitudinale beeldvorming van pathologie.	Licht
Motorische scoring (Kurlan score)	Eerste 3 maanden: 1× per week. Daarna: 1× per maand, tenzij progressie zichtbaar. Extra scoring bij afwijkingen.	60 min.	Niet-invasief; subtiele motorische en cognitieve veranderingen worden gevolgd.	
Cognitieve scoring (XBI-Module)	Op vrijwillige basis, de XBI-module is aan de thuiskooi bevestigd	N.V.T.	Niet-invasief, de XBI maakt gebruik van de intrinsieke nieuwsgierigheid.	
Dagelijkse observatie	Dagelijks door getrainde verzorgers; bij afwijkingen aanvullend door dierenarts.	10 min. per dag	Essentieel voor welzijnsbewaking en signaleren humane eindpunten.	
Hersenoperatie (stereotactische injectie)	1× bij aanvang studie	2-3 uur incl. narcose en herstel	Craniotomie (enkele millimeters) onder narcose; lokaal ongemak en herstel. Uitgevoerd met moderne technieken en adequate pijnstilling.	Matig
Transport (voor MRI- faciliteit)	1× tijdens studie (afhankelijk van aantal MRI's)	± 2-3 uur incl. acclimatisatie	Stress door verplaatsing, beperkt door training en sedatie op locatie.	Matig
ZvP-symptomen		Geleidelijk	Verwachte lichte motorische en cognitieve symptomen; ernstige symptomen niet waarschijnlijk binnen 12 maanden.	Licht

De beschreven frequenties, duur en aard van de handelingen zijn gebaseerd op de huidige wetenschappelijke inzichten en vormen de uitgangspunten voor de uitvoering van het onderzoek. Afhankelijk van de voortgang van het model en de specifieke onderzoeksvragen kan het echter noodzakelijk zijn om de planning of frequentie van bepaalde handelingen aan te passen. Dergelijke aanpassingen zullen uitsluitend plaatsvinden

na voorafgaand overleg en goedkeuring door de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD), zodat zowel de wetenschappelijke validiteit als het welzijn van de dieren optimaal worden gewaarborgd.

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

Het opzetten van een diermodel zal gefaseerd gebeuren, waarbij er elke keer eerst in $n=2$ dieren de aanpak zal worden geëvalueerd. Vervolgens kunnen de resultaten van deze initiële studie worden bekeken of er aanpassingen nodig zijn in verschillende parameters (zoals bijv. de locatie van de injectie, hoeveelheid virale vector of eiwitten en of de juiste cellen zijn aangedaan). Als de resultaten positief zijn op basis van de uitkomst van de primaire uitkomstparameters kan de aanpak gevalideerd worden in nogmaals $n=2$ dieren (totaal $n=4$ per model). Daarnaast kunnen er meerdere diermodellen opgezet worden door gebruik te maken van verschillende soorten vectoren/eiwitten waarbij we verwachten in totaal maximaal 24 dieren nodig te zullen hebben. Eerdere studies²⁻⁷ hebben aangetoond dat een dergelijke studie-opzet goed zou moeten zijn om een model op te zetten en te valideren. Op basis van deze eerste opzet kunnen er calculaties uitgevoerd worden over het aantal dieren dat nodig zal zijn voor het onderzoeken van eventuele therapieën (bijlage 3).

Voor de berekening van de groepsgrootte wordt uitsluitend uitgegaan van de twee primaire uitkomstparameters:

- i. Hoeveelheid pathologische eiwitophoping
- ii. Hoeveelheid dopaminerge neuronen (TH+ neuronen in de SN).

Deze variabelen worden behandeld als continue data en geanalyseerd met lineaire modellen (zoals ANCOVA of linear mixed models) die ook covariaten kunnen meenemen. Op basis van de verschillen en spreiding in deze primaire uitkomstparameters worden powerberekeningen uitgevoerd. Het sequentieel design zorgt dat tussentijdse analyses mogelijk zijn en dat het aantal dieren zo laag mogelijk blijft, terwijl voldoende power wordt behouden.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, levensstadia, geschatte aantallen per levensstadium, geslacht, genetische wijzigingen en, indien van belang voor het behalen van de doelstelling, de te gebruiken stam.

Volgnr.	Diersoort	Herkomst	Levensstadium	Aantal	Geslacht	Genetisch gewijzigd	Stam
1	Resusaap en Java-aap	Eigen Fok	Volwassen	24	M/V	NVT	NVT

Onderbouw de bovengenoemde keuzes.

Diersoort	Resusaap (<i>Macaca Mulatta</i>) en Java-aap (<i>Macaca Fascicularis</i>). Beide diersoorten zijn in recente studies gebruikt voor een succesvolle inductie met virale vectoren ³⁻⁸ . Daarnaast zijn de hersenen en het immuunsysteem van nonhumane primaten meer vergelijkbaar met de mens in vergelijking tot knaagdieren ^{9,10} . Voor gebruik van therapieën voor ZvP in mensen is het noodzakelijk dat deze therapieën gehumaniseerd moeten worden i.v.m. het immuunsysteem van de mens, derhalve is het nodig dat deze therapieën getest moeten worden in een primaten-model en kan dit niet in knaagdieren gedaan worden.
Herkomst	De dieren zijn afkomstig uit de interne fokkolonie van het instituut, waardoor hun volledige medische, genetische en sociale achtergrond bekend is. Dit maakt zorgvuldige selectie mogelijk.
Levensstadia	Volwassen. ZvP is een ziekte die voorkomt bij volwassen en oudere mensen. Daarom wordt er gebruik gemaakt van dieren waarbij het centrale zenuwstelsel volledig ontwikkeld is.
Aantal	24. Op basis van literatuur verwachten we dat een dosis van 10^{13} gc/ml virale vector genoeg zou moeten zijn voor het induceren van symptomen en neuronale degeneratie. Het kan echter mogelijk zijn dat deze dosis niet goed aansluit en dat er een aanpassing nodig is. Bij toediening van de eiwitten hangt de dosis af van het soort eiwit en zal deze plaatsvinden op basis van de literatuur. Daarnaast zouden er meerdere modellen (gebaseerd op bijv. mutaties in de pathologische eiwitten) opgezet kunnen worden die verschillende mate van symptomen kunnen veroorzaken, of door te variëren in de concentratie of de soort vector die wordt toegediend. Op basis hiervan wordt verwacht dat er met een maximale

	groepsgrootte van n=4 per aanpak met verschillende eiwitten, doses en soorten vectoren maximaal 24 dieren nodig zullen zijn.
Geslacht	M/V. Zowel mannen als vrouwen kunnen gebruikt worden voor het onderzoek. Het is niet aannemelijk dat er verschillen zullen zijn in het ontwikkelen van symptomen en pathologie door de virale vector/eiwitten op basis van het geslacht. Bovendien is de incidentie van ZvP bij mannen (60%) en vrouwen (40%) ongeveer gelijk ¹¹ .
Genetisch gewijzigd	NVT
Stam	NVT

C. Huisvesting en verzorging

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

☒ Ja

☐ Nee > 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.

D. Pijn en welzijnsaantasting

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

☐ Nee >

☒ 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.

Er valt niet te verwachten dat er pijn optreedt door het induceren van ZvP bij de dieren d.m.v. de vectoren/eiwitten. Wel valt te verwachten dat er plaatselijke pijn kan optreden na de operatie. De postoperatieve zorg zal zoveel mogelijk plaatsvinden m.b.v. pijnstilling om onnodige ongerief te voorkomen. Dieren zullen dagelijks worden geobserveerd en als er indicaties van pijn zijn zal er op basis van de evaluatie van de dierenarts verdoving, pijnstilling of eventuele andere pijnverlichtingsmethodes worden toegepast. Indien mogelijk wordt er voor analgesie gekozen die niet interfereert met het experiment.

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. Ongerief door transport van de dieren
2. Ongerief door de operatie en het herstel hiervan
3. Ongerief door sedaties en het ontwaken uit sedatie
4. Ongerief door verminderde eetlust na achtereenvolgende sedaties
5. Ongerief door het ontwikkelen van symptomen behorend bij ZvP

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. Transport zorgt voor stress bij de dieren.
2. Tijdens de operatie wordt er geïnjecteerd op een specifieke locatie in de hersenen van het dier. Dit vereist anesthesie, en er moet een gat in de schedel worden geboord, wat lokale irritatie en pijn kan veroorzaken op de plaats van de ingreep.
3. Voor verschillende experimentele handelingen (bijv. bloedafnames) worden de dieren gesedeerd. Sedatie kan lichte vormen van ongerief veroorzaken bij ontwaken, zoals verminderde eetlust en desoriëntatie.
4. Voor de sedatie moeten dieren nuchter zijn, wanneer er meerdere kort achtereenvolgende sedaties zijn kan dit leiden tot verminderde voedselinname.
5. Dieren kunnen symptomen ontwikkelen die kenmerkend zijn voor ZvP, zoals motorische afwijkingen en gedragsveranderingen. Deze symptomen zijn inherent aan het ziekteproces en kunnen een extra

bron van stress zijn voor de dieren. Op basis van eerdere literatuur wordt niet verwacht dat de dieren ernstige symptomen zullen ontwikkelen⁷.

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

1. De dieren zullen gecontroleerd worden getraind om in een transportkooi te lopen, wat de stress van het transport aanzienlijk kan verminderen. Het transport is nodig voor de MRI-faciliteiten, op de locatie van de MRI-faciliteit zullen de dieren worden gesedeerd in het transportvoertuig waardoor stress op de MRI-faciliteit wordt voorkomen. Hierna zullen de dieren ook weer ontwaken in het transportvoertuig.
2. De dieren krijgen narcose en pijnstilling tijdens de operatie om pijn en irritatie zoveel mogelijk te voorkomen en het herstel van de operatiewond te bevorderen. Door met moderne chirurgische methodes en planningstechnieken te werken kan de craniotomie zo klein mogelijk gehouden worden (enkele millimeters). Daarnaast wordt de operatie uitgevoerd door ervaren personeel van een ander instituut met veel expertise op dit gebied.
3. Bloed- en CSF-afnames onder sedatie zullen worden uitgevoerd door ervaren personeel om het ongerief van de prikken zoveel mogelijk te minimaliseren. Daarnaast worden alle dieren intensief getraind om te wennen aan experimentele procedures. Ongerief van inspuitingsplaatsen zal naar verwachting licht zijn. Het herstel van de dieren achteraf wordt in de gaten gehouden en een dierenarts zal geconsulteerd worden wanneer er problemen/afwijkingen van het normale gedrag worden waargenomen.
4. Dieren krijgen indien nodig ondersteunende voeding als er tekenen zijn van verminderde voedselinname of gewichtsverlies optreedt na de herhaalde sedaties. De dieren zullen dagelijks geobserveerd worden om ervoor te zorgen dat de gezondheid gewaarborgd wordt.
5. De symptomen van ZvP zullen inherent zijn aan het model. De impact hiervan wordt geminimaliseerd door de dieren goed te monitoren en indien nodig maatregelen te treffen in overleg met de dierenarts. Door bij het opzetten van de modellen te kiezen om te beginnen met een lage dosis voor de vector/eiwitten wordt verwacht dat eventuele symptomen en pathologie zich langzaam zullen ontwikkelen, waardoor er ruimte is voor een zorgvuldige observatie van de dieren. Daarnaast hebben longitudinale studies aangetoond dat ernstige symptomen na 18 maanden niet voor zijn gekomen³.

E. 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 F.

☒ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Op basis van eerdere studies met soortgelijke studie-opzet²⁻⁷ wordt er niet verwacht dat de dieren een humaan eindpunt zullen bereiken bij het opzetten van het diermodel. Alle dieren worden dagelijks beoordeeld door ervaren diervverzorgers/dierenartsen hierbij wordt extra rekening gehouden met het ontstaan van motorsymptomen. Daarnaast, als een dier tijdens de studie tekenen vertoont van ernstige gedragsveranderingen (zoals aanhoudende lethargie, apathie of sterk afwijkend sociaal gedrag), significant gewichtsverlies (>20%) binnen een week of andere duidelijke ziekteverschijnselen, wordt in overleg met de dierenarts beoordeeld hoe te handelen. Naast de dagelijkse beoordeling wordt met een vooraf afgestemde frequentie gebruik gemaakt van een klinische score voor Parkinsonsymptomen (Kurlan score, Appendix 1). Wanneer een bepaalde klinische score wordt bereikt (>20, ernstig parkinsonisme), zal het dier op humane wijze worden geëuthanaseerd. Indien er motorafwijkingen worden geconstateerd tijdens de standaard dagelijkse observatie kan het dier extra klinisch gescoord worden voor de Parkinsonsymptomen (Appendix 1), boven op de vooraf ingeplande momenten voor klinische scoring voor Parkinson om de humane eindpunten te bewaken.

Daarnaast zijn er risico's verbonden aan het uitvoeren van de injecties in de hersenen. Risico's van de operatie zijn intracraniale bloedingen, infectie en epilepsie. Deze risico's worden geminimaliseerd door de zorgvuldige planning van het injectietraject waarbij grote bloedvaten worden vermeden. Bij elke medische procedure is er kans op een infectie, daardoor wordt er gewerkt onder aseptische condities en de craniotomie zal zo klein mogelijk blijven (enkele millimeters). De huid zal na de operatie gehecht worden wat de kans op infectie

aanzienlijk verkleind. Als er een epileptische aanval plaatsvindt zal het dier in overleg met de dierenarts behandeld worden en zal de onderliggende oorzaak onderzocht en behandeld worden.

De operatie wordt uitgevoerd door medewerkers van een ander instituut die ervaring heeft met het uitvoeren van dergelijke hersenoperaties bij nonhumane primaten en bij dit instituut hebben er geen epileptische aanvallen plaatsgevonden in >10 jaar van hersenchirurgie op nonhumane primaten.

In gevallen waarbij het welzijn van het dier onomkeerbaar is aangetast, zal het dier volgens humane eindpunten (zoals hierboven beschreven) onmiddellijk uit de studie worden genomen en worden geëuthanaseerd om verder lijden te voorkomen.

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

0-5%.

F. Classificatie van ongerief

Benoem de experiment gebonden factoren die bijdragen aan het ongerief en geef voor elk van deze factoren aan hoe het ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig'. Geef per diersoort en behandelgroep het cumulatieve ongerief aan in percentages van het totale aantal dieren.

De experiment gebonden factoren zijn genoemd in de tabel bij onderdeel A. Hierin is een extra kolom toegevoegd waarbij het ongerief wordt geclassificeerd. Het cumulatieve ongerief van alle dieren die onderdeel zijn van deze experimenten wordt geclassificeerd op matig. Het ongerief wordt vooral bepaald door herhaalde bloed- en CSF-afnames, sedaties, en de ziekteprogressie.

G. 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	Omdat ZvP een complexe neurodegeneratieve aandoening is die niet alleen het centrale zenuwstelsel treft maar ook invloed uitoefent op het immuunsysteem en andere systemische processen is het niet mogelijk om de werking van nieuwe therapieën en de interacties met al deze processen te onderzoeken met behulp van in vitro modellen of modelorganismen die verder van de mens af staan. Om geavanceerde therapieën betrouwbaar te vertalen naar patiënten met ZvP is het van belang dat er gebruik gemaakt wordt van een diermodel waarbij de neuroanatomie en immuunrespons zo dicht mogelijk bij de mens staat. Het DNA van NHPs komt voor ongeveer 95% overeen met mensen, i.t.t. 85% bij knaagdieren. De hoge genetische verwantschap tussen NHPs en mensen ligt ten grondslag aan de sterke overeenkomsten in hersenstructuren zoals de prefrontale cortex, hippocampus, basale ganglia en substantia nigra. Deze regio's spelen een belangrijke rol bij neurodegeneratieve ziektes zoals ZvP. Daarnaast bieden in vitro technieken belangrijke inzichten in cellulaire processen. Echter, blijven deze systemen beperkt tot geïsoleerde processen. Dergelijke modellen zijn niet in staat om complexe interacties tussen verschillende hersengebieden en immuunrespons na te bootsen. Bovendien bieden in vitro technieken niet de mogelijkheid om systemische verspreiding van eiwitten en eiwitophoping te modelleren of om de gevolgen en symptomen te meten op gedragsniveau. Daarom zijn NHPs het enige geschikte model om te gebruiken als laatste preklinische stap omdat de translationele en voorspellende waarden van deze dieren hoog zijn voordat dergelijke therapieën klinisch getest kunnen worden.
------------	---

Vermindering	Bij het opzetten van het model wordt gestreefd naar een minimale inzet van dieren zonder concessies te doen aan de wetenschappelijke validiteit. Om het aantal benodigde dieren te beperken, worden de experimenten gefaseerd uitgevoerd. Zo wordt bijvoorbeeld begonnen met een beperkt aantal dieren voor de dosisbepaling van het virale construct of de eiwitten, waarbij gebruik wordt gemaakt van tussentijdse analyses om vast te stellen of opschaling of bijstelling nodig is. Deze sequentiële aanpak voorkomt dat er onnodig veel dieren worden gebruikt. Bovendien zullen waar mogelijk dieren ook dienen als hun eigen controle door unilateraal het model te induceren. Hierdoor zullen
--------------	---

	ziektesymptomen unilateraal optreden en kan de contralaterale zijde gebruikt worden ter controle. Daarnaast zullen er zoveel mogelijk weefsels worden opgeslagen in een biobank. Dit maakt het mogelijk om ook later nog hypothesen te onderzoeken en additionele analyses uit te voeren op dit materiaal. Door de geavanceerde neurochirurgische aanpak is de kans van slagen erg groot waardoor er in totaal minder dieren nodig zullen zijn om uiteindelijk therapieën te onderzoeken (bijlage 3).
Verfijning	De gekozen strategie door het gebruiken van AAV-vectoren (het gebruik van een virale vector die gericht bepaalde celtypen infecteert om overmatige expressie van een specifiek eiwit te induceren) of de directe injectie van eiwitten is een voorbeeld van verfijning, omdat hiermee nauwkeurig controle kan worden uitgeoefend over de locatie, timing en mate van eiwitexpressie. Dit voorkomt diffuse of systemische effecten die onnodige belasting voor het dier kunnen veroorzaken. Daarnaast worden er moderne operatietechnieken, continue monitoring en verfijnde gedragsobservaties ingezet om stress en ongemak te minimaliseren. Het gebruik van PET-CT zal alleen plaatsvinden wanneer dieren al gesedeerd worden voor het samplen van bloed en zal dus niet voor extra ongerief zorgen. Daarnaast biedt PET-CT de mogelijkheid om longitudinaal verandering te meten in de dieren zonder invasieve technieken te gebruiken. Alle procedures worden uitgevoerd door ervaren personeel en onder anesthesie of sedatie waar nodig, met adequate postoperatieve zorg. Tot slot worden humane eindpunten strikt gehanteerd om onnodig lijden tijdig te voorkomen.

Reference List

- Berger, M. et al. Standardized automated training of rhesus monkeys for neuroscience research in their housing environment. *J Neurophysiol* **119**, 796-807 (2018). <https://doi.org/10.1152/jn.00614.2017>
- Emborg-Knott, M. E. & Domino, E. F. MPTP-Induced hemiparkinsonism in nonhuman primates 6-8 years after a single unilateral intracarotid dose. *Exp Neurol* **152**, 214-220 (1998). <https://doi.org/10.1006/exnr.1998.6845>
- Liu, S. et al. An accelerated Parkinson's disease monkey model using AAV-alpha-synuclein plus poly(ADP-ribose). *Cell Rep Methods* **4**, 100876 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.crmeth.2024.100876>
- Rico, A. J. et al. Development and characterization of a non-human primate model of disseminated synucleinopathy. *Front Neuroanat* **18**, 1355940 (2024). <https://doi.org/10.3389/fnana.2024.1355940>
- Yang, W. et al. Mutant alpha-synuclein causes age-dependent neuropathology in monkey brain. *J Neurosci* **35**, 8345-8358 (2015). <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0772-15.2015>
- Chocarro, J. & Lanciego, J. L. Adeno-associated viral vectors for modeling Parkinson's disease in non-human primates. *Neural Regen Res* **21**, 224-232 (2026). <https://doi.org/10.4103/NRR.NRR-D-24-00896>
- Koprich, J. B., Johnston, T. H., Reyes, G., Omana, V. & Brotchie, J. M. Towards a Non-Human Primate Model of Alpha-Synucleinopathy for Development of Therapeutics for Parkinson's Disease: Optimization of AAV1/2 Delivery Parameters to Drive Sustained Expression of Alpha Synuclein and Dopaminergic Degeneration in Macaque. *PLoS One* **11**, e0167235 (2016). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167235>
- Sucunza, D. et al. Glucocerebrosidase Gene Therapy Induces Alpha-Synuclein Clearance and Neuroprotection of Midbrain Dopaminergic Neurons in Mice and Macaques. *Int J Mol Sci* **22** (2021). <https://doi.org/10.3390/ijms22094825>
- Tseng, C.-M. L., Faggioni, R. & Roskos, L. K. in *The Nonhuman Primate in Nonclinical Drug Development and Safety Assessment* (eds Joerg Bluemel, Sven Korte, Emanuel Schenck, & Gerhard F. Weinbauer) 359-375 (Academic Press, 2015).
- Clemons, D. J., Meador, V., Weinbauer, G. F. & Wakefield, G. A. in *Nonhuman Primates in Biomedical Research* (eds Christian R. Abee, Keith Mansfield, Suzette Tardif, & Timothy Morris) 493-510 (Academic Press, 2012).
- Bloem, B. R., Okun, M. S. & Klein, C. Parkinson's disease. *Lancet (London, England)* **397**, 2284-2303 (2021). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00218-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00218-X)

Zijn er nadelige milieueffecten te verwachten?

☒ Nee

☐ Ja > Benoem de te verwachten milieueffecten en geef aan welke maatregelen zijn genomen om deze tot een minimum te beperken.

H. Hergebruik

Worden er dieren ingezet die eerder in een andere dierproef zijn gebruikt?

☐ Nee, ga verder met vraag I.

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

Dieren kunnen worden hergebruikt als dit geen invloed heeft op de uitkomsten van de huidige studie. De gezondheid en het welzijn van de dieren worden vooraf zorgvuldig beoordeeld door een dierenarts. Het cumulatieve ongerief of blijvende effecten van eerdere studies bepalen of hergebruik mogelijk is. Dit wordt per studie overwogen en in overleg met de IvD beoordeeld.

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

☒ Nee

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

I. Herhaling

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

Niet van toepassing.

J. Plaats waar de dierproef wordt uitgevoerd

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 K.

☐ 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?

K. Bestemming van de dieren bij einde experiment

Worden de dieren gedood?

☐ Nee > Beschrijf de bestemming van de dieren.

☒ Ja > Geef aan waarom de dieren worden gedood.

De dieren zullen worden gedood aan het einde van de studie om onderzoek te kunnen doen naar de biologische respons op de virale vector. Daarnaast zal er gekeken worden naar de bio-distributie van de virale vector en de neurobiologische respons waarvoor o.a. postmortem hersenweefsel onderzocht moet worden. Indien dieren worden gedood, wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van Richtlijn 2010/63/EU toegepast?

☐ Nee > Beschrijf de dodingsmethode en onderbouw de keuze hiervoor.

☒ Ja > Betreft het een dodingsmethode die alleen onder specifieke voorwaarden mag worden toegepast?

☒ Nee> Beschrijf de dodingsmethode

De dieren worden eerst onder narcose gebracht met een mix van twee verschillende anesthetica: Medetomidine en Ketamine. Wanneer het dier vervolgens onder narcose is wordt het euthanasaat (Euthasol:Phenytoin/Pentobarbital) toegediend.

☐ Ja > Beschrijf de dodingsmethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Indien dieren worden gedood, maar niet in het kader van de proef, geef aan of herplaatsing is overwogen en waarom hiervan is afgezien.

N.V.T.

Description of the Kurlan rating scale for Parkinson symptoms

The 10 primary items of the scale each contribute maximally 3 points (adding up to 30 points total, with overall scores being used for items that are rated separately for the right and left side). We use the summary score to classify animals into those which are mildly parkinsonian (5-10/30 points), moderately parkinsonian (10-20/30 points), and severely parkinsonian (> 20 points).

Description of individual score criteria

	Definition	0	1	2	3	Notes
Bradykinesia	Slowness of movements	Normal speed of movements	Noticeably slower, 15-20% time of observation time	Noticeably slower, 20-50% time	Noticeably slower >50% time	Compared to baseline
Leg, trunk, head akinesia	Poverty of movement in legs, trunk or head	Normal number of movements	Slightly reduced number of movements	Moderately reduced number of movements	No movement during observation time	Compared to baseline
Arm akinesia	Amount of arm movements	Normal amount of movement	Slightly reduced number of movements	Moderately reduced number of movements (reaches occasionally)	Severely reduced number of movements (no reaches)	Compared to baseline
Extremity posture abnormalities	Flexed postures, such as limbs not fully extended during locomotion, curled digits, flexed elbow and/or wrist	No abnormal postures	Abnormal postures appear occasionally	Abnormal postures appear intermittently	Abnormal postures appear frequently	
Action tremor	Oscillatory movements that appear with movement	No tremor	Tremor appears <10% of time when monkey is moving	Appears with 10-50% of movements	Present >50% time of movements	Action tremor is not per se a parkinsonian sign, but is often present with significant effort or exertion
Finger dexterity impairments	Difficulty with grasping or picking movements	Normal ability to move fingers	Some failures to pick up small items	Fine finger movements fall 50% of the time	Not able to use fingers for fine reaching (only gross hand movements).	Compared to baseline
Balance impairments	Problems normally climbing a perch	No impairment	Single episode of imbalance (e.g., clumsy mounting and dismounting perch) during a 15-minute observation period	Some episodes of imbalance (loses balance moving to or from perch, use of the cage wall for support), with other episodes of normal balance	Frequent episodes of losing balance, falling	
Impairment of trunk posture	Trunk postural impairment (such as stooping)	Head above shoulder level, slight back curve, gaze unrestricted	Head tilted forward, slightly hunched, gaze at or below horizon	Head at shoulder level, noticeable hunched over, gaze below horizon	Head below shoulder level, gaze at floor	
Freezing	Disruption of ongoing movement (usually gait)	No freezing episodes	Few (<3) or short (<5 s) episodes	Several episodes (3-5 per 15 minutes), lasting >5s	Many episodes (>5 per 15 minutes) lasting > 5s	
Reduced home cage activity	Poverty of movement <i>in home cage</i>	Normal activity in home cage	Less spontaneous activity, less reactive	Spends most time not moving, still reactive	Does not react, does not move	Compared to baseline, measured in time spent moving
The following items do not count for the total score, but are helpful to fully describe the parkinsonian state:						
Rigidity	Muscle stiffness	Normal tone	Slight rigidity, 1-2 limbs	Moderate rigidity, 2-4 limbs	Severe rigidity, 2-4 limbs	Examined by physical examination
Chorea (present/absent)	Involuntary large amplitude movements (e.g. arm swings).		N/A	N/A	N/A	Binary item (yes/no)
Dystonia (present/absent)	Sustained and abnormal muscle contractions. Note body part(s) affected.		N/A	N/A	N/A	Binary item (yes/no)
Tremor at rest (present/absent)			N/A	N/A	N/A	Binary item (yes/no)
Impaired food intake	Change in amount and type of food eaten	Regular intake of chow, fruits, vegetables, and treats	Eats treats, fruits and veggies, but reduced regular chow intake	Eats small amounts of regular chow or soft chow. Eats treats or drinks liquids if offered	Cannot take any food without external help or medication	Compared to baseline
Eye blinks/minute		N/A	N/A	N/A	N/A	Single number

Example scoring sheet

Date			
Time			
Rater			
Treatment			
	L	Both	R
Bradykinesia	0		0
Leg, trunk, head akinesia	0		0
Arm akinesia	0		0
Extremity posture abnormalities	0		0
Action Tremor	0		0
Finger dexterity impairments	0		0
Balance impairments		0	
Impairment of trunk posture		0	
Freezing		0	
Reduced home cage activity		0	
Summary score (side-specific)	0		0
Global Score		0	
Rigidity			
Chorea			
Dystonia			
Tremor at rest			
Impaired food intake			
Eye blinks/minute			
Comments			

Explanation of Symptoms

1. Bradykinesia

- *Meaning:* Slowness of movement, one of the core symptoms of Parkinson's disease.
- *Manifestation:* Movements are initiated slowly and performed with reduced speed and amplitude. It affects both voluntary actions (e.g., walking, writing) and automatic ones (e.g., facial expressions, blinking).

2. Leg, trunk, head akinesia

- *Meaning:* Akinesia is the absence or marked reduction of movement. When it affects the legs, trunk, or head, the patient may appear stiff or "frozen."
- *Manifestation:* Difficulty initiating steps, a rigid or immobile torso, or reduced spontaneous head movements (e.g., when turning or looking around).

3. Arm akinesia

- *Meaning:* Similar to the above but affecting the arms.
- *Manifestation:* Reduced arm swing when walking, difficulty starting arm movements, or a sense of the arms being "stuck."

4. Extremity posture abnormalities

- *Meaning:* Abnormal positioning of the arms, legs, hands, or feet.
- *Manifestation:* Flexed elbows, stooped knees, or claw-like hand positions. Often due to rigidity and impaired postural reflexes.

5. Action tremor

- *Meaning:* Tremor that appears or worsens during voluntary movement, in contrast to the classic Parkinsonian "resting tremor."
- *Manifestation:* Shaking of the hands when reaching for objects, holding a utensil, or writing.

6. Finger dexterity impairments

- *Meaning:* Loss of fine motor control in the fingers.
- *Manifestation:* Difficulty with buttoning clothes, typing, or manipulating small objects. Often measured with tasks like finger tapping or pegboard tests.

7. Balance impairments

- *Meaning:* Problems maintaining upright posture and equilibrium.
- *Manifestation:* Increased risk of falls, unsteadiness when standing, or swaying when turning. Related to impaired postural reflexes and trunk rigidity.

8. Impairment of trunk posture

- *Meaning:* Abnormal alignment or control of the trunk.
- *Manifestation:* Stooped, flexed posture; leaning to one side (Pisa syndrome); or difficulty holding the trunk upright while sitting or standing.

9. Freezing

- *Meaning:* A sudden, brief inability to move, despite the intention to do so.
- *Manifestation:* Most often occurs when starting to walk ("start hesitation") or when turning. The feet may seem "glued to the floor." This can be highly disabling and anxiety-provoking.

10. Reduced home cage activity

- *Meaning:* (In animal models) a measurable reduction in spontaneous locomotor activity within the animal's home environment.
- *Manifestation:* Monkeys or rodents spend less time moving around, exploring, or engaging in normal behaviours. It's considered an analogue of reduced mobility and apathy in human patients.



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 in de 'Toelichting op de te gebruiken formulieren voor de aanvraag van een projectvergunning' op de website www.centralecommissiedierproeven.nl
- Of neem telefonisch contact op (0800-789 0789).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

5.1.2.e

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

5.1.2.e

- 1.3 Vul het volgnummer en de titel van de dierproef in.

Volgnummer Titel dierproef

2

Farmacokinetica van therapieën voor Parkinson

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.3 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Om de werkzaamheid van een therapie te kunnen evalueren in een nonhumaan primaat (NHP)-model voor de ziekte van Parkinson (ZvP) kan het noodzakelijk zijn om de farmacokinetiek van de therapie in kaart te brengen. Hiervoor kunnen er verschillende doseringen getest worden, met als doel het bepalen van een effectieve en veilige concentratie van de therapie na de toediening.

Tijdens een experiment zal worden gekeken naar de farmacokinetiek en/of farmacodynamiek. In het geval van farmacokinetiek worden de circulerende concentraties van een therapie bepaald in bloed en CSF dat regelmatig zal worden afgenomen. In het geval van farmacodynamiek kan er o.a. worden gekeken naar hematologie en bloedchemie, celtypes in bloed en cytokineproductie, in uitzonderlijke gevallen kan er postmortem gekeken worden naar de lymfeklieren en/of andere organen om te bepalen of de teststof de gewenste organen/cellen bereikt.

Na toediening zal er op vaste tijdstippen bloed en CSF af worden genomen om de concentratie van het middel te meten. Op basis van deze data kan de optimale dosis bepaald worden van een therapie voor gebruik in het NHP-model (Bijlage 3).

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

1. Een medicijn mag niet toxisch zijn dat het ernstige nevenwerkingen, die sterker invaliderend zijn dan ZvP, veroorzaakt. Voordat deze in het aapmodel worden gebruikt moet zij eerst uitgebreid *in vitro* (celweek) of in kleine proefdieren getest zijn op de afwezigheid van toxiciteit.
2. De therapie is ontwikkeld voor een humaan doel/target molecuul, maar zal ook in de resus- en java-ape hetzelfde target molecuul moeten herkennen.

3. De werkzaamheid van een therapie moet eerst uitgebreid getest zijn *in vitro* of in kleine proefdieren alvorens deze getest kan worden in NHPs. Hierbij moet de therapie een aangetoond positief effect hebben op een pathofysiologisch proces bij ZvP.
4. De therapie is zo ver ontwikkeld dat het evalueren van de therapie in NHPs een laatste stap voor klinische translatie is.
5. Het beoogde target moet vanuit wetenschappelijk oogpunt een bijdrage leveren over de kennis van ZvP. Het onderzoek van een behandelmethode moet daarom het inzicht over het werkingsmechanisme dat ten grondslag ligt aan ZvP vergroten.
6. De therapie is specifiek voor primaten waardoor het niet in een ander diersoort kan worden getest. Of de therapie kan niet afdoende worden getest in een ander diersoort vanwege beperkte validiteit in deze diersmodellen.

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.

De toedieningsroute van een therapie wordt per studie bepaald en is afhankelijk van de aard van de stof. Tijdens een experiment zal er 1 toedieningsroute worden gebruikt. Afhankelijk van de toedieningsroute zal de teststof eenmalig of herhaaldelijk worden gegeven (maximaal 1 toediening per dag). Mogelijke toedieningsroutes zijn intraveneus (i.v.), subcutaan (s.c.), intramusculair (i.m.), intranasaal (i.n.), oraal, intrathecaal (i.t.) of intracraniaal (i.c.). Bij perifere toediening (i.v., s.c., i.m., i.n., en oraal) zal dit wanneer mogelijk zonder sedatie worden uitgevoerd om het dier het ongerief van sedatie te besparen.

Een i.c. en/of i.t. toediening wordt alleen gebruikt als een teststof lokaal moet worden toegediend omdat het in de huidige samenstelling niet door de bloed-hersen barrière kan om het werkingsmechanisme van de stof te testen. Indien een therapie niet in specifieke hersengebieden hoeft te worden geïnjecteerd wordt gekozen voor een i.t. toediening. Indien een therapie in specifieke hersengebieden moet worden geïnjecteerd wordt gekozen voor een i.c. toediening.

Er wordt na toediening van de therapie op vaste tijdstippen bloed en CSF afgenomen, beginnend vanaf het moment van toediening tot ten minste 24 uur post-administratie, en daarna eenmaal daags tot maximaal 7 dagen na toediening, afhankelijk van de halfwaardetijd van het middel. Bij het volume van de bloedafnames wordt strikt rekening gehouden met de richtlijn van maximaal 0,7% van het lichaamsgewicht per afname, en niet meer dan 1% per maand. Daarnaast zullen de dieren worden geobserveerd om verandering in het gedrag en activiteit te monitoren. Alle experimentele handelingen zullen zoveel mogelijk gecombineerd worden tijdens een enkele sedatie om ongerief te besparen.

Daarnaast is het mogelijk dat de studie kan worden uitgevoerd in een sequentiële opzet, waarbij hetzelfde dier eerst een lage dosering van het middel ontvangt. Vervolgens kan, na een wash-outperiode (minimaal 14 dagen), waarin het middel volledig wordt uitgescheiden, het dier opnieuw worden behandeld met een hogere dosering. Ook dan worden op vaste tijdstippen bloedmonsters verzameld. Dit ontwerp maakt het mogelijk om dezelfde parameters per dier te vergelijken en draagt bij aan vermindering van het aantal benodigde dieren.

De volgende paragraaf is alleen van toepassing op een i.c. toediening:

Het kan zo zijn dat een i.c. toediening wordt gekozen voor specifieke therapieën omdat een dergelijke toedieningsroute gewenst is, zoals bijvoorbeeld een eenmalige gentherapie. Virale vectoren kunnen worden ingezet als (gen)therapie om bijv. lokaal complexe eiwitten en/of antilichamen te produceren die aangrijpen op de pathologische eiwitten in ZvP. Dergelijke vectoren kunnen centraal worden toegediend omdat de huidige vectoren nog niet goed de bloed-hersenbarrière kunnen oversteken. Een gentherapie is een éénmalige toediening en weegt hierdoor bij patiënten vaak op tegen het ongemak van de centrale toediening. Daarnaast zijn er ontwikkelingen in de wetenschap die er mogelijk voor kunnen zorgen dat in de toekomst dergelijke therapieën perifeer (i.v.) toegediend kunnen worden om vervolgens de bloed-hersenbarrière over te steken. Voor een gelokaliseerde i.c. toediening van een gentherapie in specifieke hersengebieden moeten de hersenen in beeld gebracht worden. Hiervoor zullen de dieren een MRI ondergaan en worden zij getransporteerd naar een gespecialiseerde faciliteit (buiten het eigen instituut) waar een geschikte MRI-scanner aanwezig is. Om stress zoveel mogelijk te beperken, worden de dieren vooraf getraind in het lopen naar en verblijven in een transportkooi. Tijdens de scan bevinden de dieren zich onder sedatie, zodat ze comfortabel en onbeweeglijk blijven liggen. De MRI vindt plaats vóór de operatie en is bedoeld om het brein in beeld te brengen en de exacte locatie van hersengebieden te bepalen en de injectieplanning vast te stellen. Na het transport is er een

acclimatisatieperiode zodat de dieren weer tot rust kunnen komen. Vervolgens vindt een stereotactische injectie in de hersenen plaats. Deze procedure gebeurt onder narcose, met monitoring van de vitale functies. Omdat er zeer nauwkeurig moet worden toegediend in de specifieke hersenstructuren, wordt het hoofd van het dier tijdens de operatie gefixeerd in een stereotactisch frame. Het stereotactisch frame kan op een niet-invasieve manier geplaatst worden op de oren en de bovenkaak. De eerder gemaakte MRI-opnamen dienen als leidraad om het juiste traject naar de doellocatie te bepalen en de injectie met maximale precisie uit te voeren, hierbij wordt ook gebruik gemaakt van geavanceerde software en apparatuur die ontwikkeld zijn voor hersenchirurgie.

Tabel. Overzicht procedures, frequenties, duur en ongerief.

Handeling	Basisfrequentie	Duur per handeling	Omschrijving / onderbouwing	Mate van ongerief
Toediening therapie (i.v., s.c., i.m., i.n., oraal)	Eenmalig of herhaaldelijk afhankelijk van studie	± 5–15 min. (zonder sedatie indien mogelijk)	Doseringstudie (max 1x per dag)	Licht
Bloedafnames	Meerdere tijdstippen tot 24 uur na toediening, daarna dagelijks tot max. 7 dagen	± 10–15 min. incl. sedatie	Kortdurend prikongemak; uitgevoerd onder sedatie en volgens richtlijnen (max. 0,7% lichaamsgewicht per keer).	Licht
CSF-afnames	Parallel aan bloed, afhankelijk van studie (max. 2ml per dag)	± 20 min. incl. sedatie	Kortdurend prikongemak; uitgevoerd onder sedatie en volgens richtlijnen (max. 2ml per dag/keer)	Licht
Dagelijkse observatie	Dagelijks	5–10 min. per dier	Monitoring gedrag, activiteit en bijwerkingen.	
Transport voor MRI (i.c.)	1x voor MRI	± 2–3 uur incl. acclimatisatie	Dieren getraind om stress te beperken.	Matig
Toediening therapie (i.c.) 5.1.2.e hersenoperatie	1x	2–3 uur incl. narcose en recovery	Craniotomie (enkele millimeters) onder narcose; lokaal ongemak en herstel. Uitgevoerd met moderne technieken en adequate pijnstilling.	Matig

De beschreven frequenties, duur en aard van de handelingen zijn gebaseerd op de huidige wetenschappelijke inzichten en vormen de uitgangspunten voor de uitvoering van het onderzoek. Afhankelijk van de voortgang van het model en de specifieke onderzoeksvragen kan het echter noodzakelijk zijn om de planning of frequentie van bepaalde handelingen aan te passen. Dergelijke aanpassingen zullen uitsluitend plaatsvinden na voorafgaand overleg en goedkeuring door de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD), zodat zowel de wetenschappelijke validiteit als het welzijn van de dieren optimaal worden gewaarborgd.

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

In een farmacokinetiek en/of farmacodynamiek experiment is ieder dier zijn eigen controle (t.o.v. de nulmeting, van voor het toedienen van de teststof). Statistische toetsing vindt plaats door vergelijking van een parameter voor en na toediening van een behandeling. De grootte van een testgroep wordt niet door power analyse bepaald, maar wordt bepaald op basis van ervaringen uit eerdere studies met een soortgelijke therapie. Een testgroep zal in de regel bestaan uit een gelimiteerd aantal dieren (n=2-4 per groep). De ervaring leert dat farmacokinetiekprofielen zijn zeer consistent tussen dieren en een groepsgrootte van twee dieren is uit eerdere studies voldoende informatief gebleken^{1,2}. Het effect van een therapie op biologische processen (farmacodynamiek) omvat meerdere variabelen tussen dieren en vereist daarom groepsgrootte van 3-4 dieren, afhankelijk van de therapie.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, levensstadia, geschatte aantallen per levensstadium, geslacht, genetische wijzigingen en, indien van belang voor het behalen van de doelstelling, de te gebruiken stam.

Volgnr.	Diersoort	Herkomst	Levensstadium	Aantal	Geslacht	Genetisch gewijzigd	Stam
1	Resusaap en Java-aap	Eigen Fok	Volwassen	36	M/V	NVT	NVT

Onderbouw de bovengenoemde keuzes.

Diersoort	Resusaap (<i>Macaca Mulatta</i>) en Java-aap (<i>Macaca Fascicularis</i>). Deze dieren hebben als voordeel t.o.v. andere diersmodellen dat de stofwisseling van geneesmiddelen, farmacokinetiek sterk overeenkomt met mensen ^{1,2} . Hierdoor worden geneesmiddelen bij NHPs op een vergelijkbare manier gemetaboliseerd als bij mensen, en vertonen ze ook een vergelijkbare wijze van werking. Omdat de therapie getest zal worden in een primaten-model als laatste preklinische stap is het belangrijk dat de farmacokinetiek en dynamiek ook wordt vastgesteld in NHPs.
Herkomst	De dieren zijn afkomstig uit de eigen interne fokkolonie, waardoor hun volledige medische, genetische en sociale achtergrond bekend is. Dit maakt zorgvuldige selectie mogelijk.
Levensstadia	Volwassen. ZvP is een ziekte die voorkomt bij volwassen en oudere mensen. Daarom wordt er gebruik gemaakt van dieren waarbij het centrale zenuwstelsel volledig ontwikkeld is. Daarnaast is het belangrijk dat dezelfde leeftijd wordt gebruikt als voor de dieren die therapieën zullen testen in het diersmodel (bijlage 3).
Aantal	Het geschatte aantal studies waarbij er therapieën getest kunnen worden in het NHP-model voor ZvP (Bijlage 3) is 3. Het aantal dieren per testgroep zal maximaal 4 zijn. Daarnaast zullen er maximaal 2 concentraties per therapie getest worden. Daarom zullen er maximaal $2 \text{ (concentraties)} \times 3 \text{ (studies)} \times 3 \text{ (dieren)} \times 2 \text{ (geslacht*)} = 36$ dieren nodig zijn voor farmacokinetiek en farmacodynamiek studies.
Geslacht	M/V. Zowel mannen als vrouwen kunnen gebruikt worden voor het onderzoek. Omdat het diersmodel in mannen en vrouwen wordt opgezet (bijlage 1), en de therapieën ook getest kunnen worden in beide geslachten (bijlage 3) is het belangrijk om ook eventuele farmacokinetiek en dynamiek te kunnen testen in zowel mannen als vrouwen. * Indien voor een specifieke therapie een biologische of farmacologische reden aanwezig is om sekseverschillen te verwachten, kunnen beide geslachten worden meegenomen. Als er geen wetenschappelijke basis is om dergelijke verschillen te veronderstellen, wordt het geslacht niet als vaste factor gehanteerd en is het dus niet nodig om dieren van beide geslachten in gelijke mate in te zetten.
Genetisch gewijzigd	NVT
Stam	NVT

C. Huisvesting en verzorging

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

☒ Ja

☐ Nee > 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.

D. Pijn en welzijnsaantasting

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

☐ Nee >

☒ 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.

Op basis van de experimentele opzet wordt er geen pijn verwacht bij het testen van de therapieën. Echter, indien er pijn optreedt zal er op basis van de evaluatie van de dierenarts verdoving, pijnstilling of eventuele andere pijnverlichtingsmethodes worden toegepast. Indien mogelijk wordt er voor analgesie gekozen die niet interfereert met het experiment.

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. Ongerief door sedaties en het ontwaken uit sedatie
2. Ongerief door verminderde eetlust na achtereenvolgende sedaties
3. Ongerief door bijwerkingen van de teststof

Alleen bij i.c. toediening:

4. Ongerief door transport van de dieren
5. Ongerief door de operatie en het herstel hiervan

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. Voor verschillende experimentele handelingen (bijv. bloedafnames) worden de dieren gesedeerd. Sedatie kan lichte vormen van ongerief veroorzaken bij ontwaken, zoals verminderde eetlust en desoriëntatie.
2. Voor de sedatie moeten dieren nuchter zijn, wanneer er meerdere kort achtereenvolgende sedaties zijn kan dit leiden tot verminderde voedselinname.
3. De teststof kan mogelijk voor bijwerkingen zorgen afhankelijk van de het mechanisme waarop de teststof aangrijpt.
Alleen bij i.c. toediening:
4. Transport zorgt voor stress bij de dieren
5. Tijdens de operatie wordt er geïnjecteerd op een specifieke locatie in de hersenen van het dier. Dit vereist anesthesie, en er moet een gat in de schedel worden geboord, wat lokale irritatie en pijn kan veroorzaken op de plaats van de ingreep

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

1. Bloed- en CSF-afnames zullen worden uitgevoerd door ervaren personeel om het ongerief van de prikken zoveel mogelijk te minimaliseren. Daarnaast worden alle dieren intensief getraind om te wennen aan experimentele procedures. Ongerief van inspuitingsplaatsen zal naar verwachting licht zijn. Het herstel van de dieren achteraf wordt in de gaten gehouden en een dierenarts zal geconsulteerd worden wanneer er problemen/afwijkingen van het normale gedrag worden waargenomen.
2. Bij herhaalde sedaties (>3 achtereenvolgende dagen) krijgen de dieren aanvullende voeding (sondevoeding bij langdurige sedaties of brokkenballen) om gewichtsverlies als gevolg van de sedaties te voorkomen. De dieren zullen dagelijks geobserveerd worden om ervoor te zorgen dat de gezondheid gewaarborgd wordt.
3. De dieren worden dagelijks gemonitord of er bijwerkingen zijn door de toediening van de teststof op basis van klinische symptomen en afwijkingen in gedrag/activiteit, daarnaast wordt ook het bloed gemonitord door het afgenomen bloed te analyseren op basis van de bloedcompositie en bloedchemie. Door deze monitoring worden gedragsafwijkingen, gewichtsverlies en andere onverwachte bijwerkingen in de gaten gehouden zodat indien nodig er zo spoedig mogelijk gehandeld wordt om ernstig ongerief te voorkomen. Door alleen therapieën te testen die al getest zijn voor veiligheid en toxiciteit in andere diermodellen of *in vitro/in silico* zullen de risico's van het optreden van bijwerkingen worden geminimaliseerd.
Alleen bij i.c. toediening:
4. De dieren zullen gecontroleerd worden getraind om in een transportkooi te lopen, wat de stress van het transport aanzienlijk kan verminderen. Het transport is nodig voor de MRI-faciliteiten, op de locatie

van de MRI-faciliteit zullen de dieren worden gesedeerd in het transportvoertuig waardoor stress op de MRI-faciliteit wordt voorkomen. Hierna zullen de dieren ook weer ontwaken in het transportvoertuig

5. De dieren krijgen narcose en pijnstilling tijdens de operatie om pijn en irritatie zoveel mogelijk te voorkomen en het herstel van de operatiewond te bevorderen. Door met moderne chirurgische methodes en planningstechnieken te werken kan de craniotomie zo klein mogelijk gehouden worden (enkele millimeters). Daarnaast wordt de operatie uitgevoerd door ervaren personeel van een gespecialiseerd instituut.

E. 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 F.

☒ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Er wordt niet verwacht dat de dieren een humaan eindpunt zullen bereiken bij het uitvoeren van een PK-studie. Echter, indien een dier tijdens de studie tekenen vertoont van ernstige gedragsveranderingen (zoals aanhoudende lethargie, apathie of sterk afwijkend sociaal gedrag), significant gewichtsverlies (>20%) binnen een week of andere duidelijke ziekteverschijnselen, wordt in overleg met de dierenarts beoordeeld hoe te handelen. In gevallen waarbij het welzijn van het dier onomkeerbaar is aangetast, zal het dier volgens humane eindpunten onmiddellijk uit de studie worden genomen en worden geëuthanaseerd om verder lijden te voorkomen. Alle dieren worden dagelijks klinisch beoordeeld door ervaren verzorgers en zullen bij afwijkingen ook worden geobserveerd door dierenartsen.

Daarnaast zijn er risico's verbonden aan het uitvoeren van de injecties in de hersenen. Risico's van de operatie zijn intracraniale bloedingen, infectie en epilepsie. Deze risico's worden geminimaliseerd door de zorgvuldige planning van het injectietraject waarbij grote bloedvaten worden vermeden. Bij elke medische procedure is er kans op een infectie, daardoor wordt er gewerkt onder aseptische condities en de craniotomie zal zo klein mogelijk blijven (enkele millimeters). De huid zal na de operatie gehecht worden wat de kans op infectie aanzienlijk verkleint. Als er een epileptische aanval plaatsvindt zal het dier in overleg met de dierenarts behandeld worden en zal de onderliggende oorzaak onderzocht en behandeld worden.

De operatie wordt uitgevoerd door medewerkers van een ander instituut die ervaring heeft met het uitvoeren van dergelijke hersenoperaties bij nonhumane primaten en bij dit instituut hebben er geen epileptische aanvallen plaatsgevonden in >10 jaar van hersenchirurgie op nonhumane primaten.

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

0-5%

F. Classificatie van ongerief

Benoem de experiment gebonden factoren die bijdragen aan het ongerief en geef voor elk van deze factoren aan hoe het ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig'. Geef per diersoort en behandelgroep het cumulatieve ongerief aan in percentages van het totale aantal dieren.

De experiment gebonden factoren zijn genoemd in de tabel bij onderdeel 5.1.2e is een extra kolom toegevoegd waarbij het ongerief wordt geclassificeerd. Het cumulatieve ongerief van alle dieren die onderdeel zijn van deze experimenten wordt geclassificeerd op matig. Het ongerief wordt vooral bepaald door herhaalde bloedafnames en sedaties.

G. 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	Voor het betrouwbaar evalueren van nieuwe therapieën is het noodzakelijk dat het doelmolecuul (target) door het model wordt herkend. Veel therapieën zijn specifiek
------------	---

	ontwikkeld voor humane targets die in knaagdieren niet, of slechts beperkt, aanwezig zijn, terwijl deze bij NHPs wel beschikbaar zijn. Het DNA van NHPs komt voor circa 95% overeen met dat van mensen (tegenover ongeveer 85% bij knaagdieren), waardoor cruciale hersenstructuren sterke overeenkomsten vertonen met de mens en deze gebieden zijn ook van belang voor de pathogenese van ZvP. De inzet van NHPs vindt uitsluitend plaats wanneer andere diermodellen niet toereikend of informatief genoeg zijn voor het beantwoorden van de onderzoeksvraag. Voorafgaand worden altijd bestaande data uit in vivo- en in vitro-onderzoek met knaagdieren zorgvuldig geanalyseerd om de keuze van dosis, toedieningsroute en behandelingschema te onderbouwen. Waar mogelijk wordt aanvullend gebruik gemaakt van in vitro en in silico methoden om de veiligheid en toxiciteit van kandidaattherapieën te beoordelen, zodat alleen therapieën die voldoen aan strikte vooraf gedefinieerde criteria in NHPs worden getest.
Vermindering	Bij het opzetten van het model wordt gestreefd naar een minimale inzet van dieren zonder concessies te doen aan de wetenschappelijke validiteit. Om het aantal benodigde dieren te beperken, worden experimenten gefaseerd uitgevoerd. Bovendien zullen dieren ook dienen als hun eigen controle door gebruik te maken van een nulmeting aan het begin van de studie. Waar mogelijk kunnen meerdere doses in dezelfde dieren getest worden om het aantal gebruikte dieren tot een minimum te beperken.
Verfijning	Alle procedures worden uitgevoerd door ervaren personeel en onder anesthesie of sedatie waar nodig, met adequate zorg. Tot slot worden humane eindpunten strikt gehanteerd om onnodig lijden tijdig te voorkomen. Dieren worden dagelijks geobserveerd en zijn zoveel mogelijk getraind om mee te werken met de experimentele handelingen. Er wordt altijd getracht om de hoeveelheid handelingen en bloedafnames te beperken tot een minimum.
Reference List 1 Tseng, C.-M. L., Faggioni, R. & Roskos, L. K. in <i>The Nonhuman Primate in Nonclinical Drug Development and Safety Assessment</i> (eds Joerg Bluemel, Sven Korte, Emanuel Schenck, & Gerhard F. Weinbauer) 359-375 (Academic Press, 2015). 2 Clemons, D. J., Meador, V., Weinbauer, G. F. & Wakefield, G. A. in <i>Nonhuman Primates in Biomedical Research</i> (eds Christian R. Abee, Keith Mansfield, Suzette Tardif, & Timothy Morris) 493-510 (Academic Press, 2012).	
Zijn er nadelige milieueffecten te verwachten?	
☒ Nee	
☐ Ja > Benoem de te verwachten milieueffecten en geef aan welke maatregelen zijn genomen om deze tot een minimum te beperken.	

H. Hergebruik

Worden er dieren ingezet die eerder in een andere dierproef zijn gebruikt?

☐ Nee, ga verder met vraag I.

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

Dieren kunnen worden hergebruikt als dit geen invloed heeft op de uitkomsten van de huidige studie. De gezondheid en het welzijn van de dieren worden vooraf zorgvuldig beoordeeld door een dierenarts. Het cumulatieve ongerief of blijvende effecten van eerdere studies sluiten hergebruik uit.

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

☒ Nee

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

I. Herhaling

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

Niet van toepassing.

J. Plaats waar de dierproef wordt uitgevoerd

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 K.

☐ 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?

K. Bestemming van de dieren bij einde experiment

Worden de dieren gedood?

☐ Nee > Beschrijf de bestemming van de dieren.

☒ Ja > Geef aan waarom de dieren worden gedood.

In sommige gevallen (om bijvoorbeeld te kijken naar biodistributie in de hersenen) zullen de dieren aan het eind van een studie worden gedood ten einde onderzoek te kunnen doen naar de biologische respons van de teststof in organen. Veelal kan bij dergelijke PK/PD studies worden volstaan met bloed en hoeft een dier hiervoor niet te worden gedood. Indien dieren niet worden gedood zullen zij terug worden geplaatst in de experimentele voorraad.

Indien dieren worden gedood, wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van Richtlijn 2010/63/EU toegepast?

☐ Nee > Beschrijf de dodingsmethode en onderbouw de keuze hiervoor.

☒ Ja > Betreft het een dodingsmethode die alleen onder specifieke voorwaarden mag worden toegepast?

☒ Nee > Beschrijf de dodingsmethode

De dieren worden eerst onder narcose gebracht met een mix van twee verschillende anesthetica: Medetomidine en Ketamine. Wanneer het dier vervolgens onder narcose is wordt het euthanasaat (Euthasol:Phenytol/Pentobarbital) toegediend.

☐ Ja > Beschrijf de dodingsmethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Indien dieren worden gedood, maar niet in het kader van de proef, geef aan of herplaatsing is overwogen en waarom hiervan is afgezien.

N.V.T.



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 in de 'Toelichting op de te gebruiken formulieren voor de aanvraag van een projectvergunning' op de website www.centralecommissiedierproeven.nl
- Of neem telefonisch contact op (0800-789 0789).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

5.1.2.e

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

5.1.2.e

- 1.3 Vul het volgnummer en de titel van de dierproef in.

Volgnummer

Titel dierproef

3

Evaluatie Therapieën voor Parkinson

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.3 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 evalueren van therapieën in een diermodel in nonhumane primaten voor de neurodegeneratieve ziekte van Parkinson (ZvP, beschreven in bijlage 1). Het evalueren van nieuwe therapieën in een diermodel voor ZvP is essentieel om het werkingsmechanisme te onderzoeken van de therapie en ter voorbereiding op de veiligheid voor een eventuele klinische translatie van de therapie. Het doel van de te onderzoeken therapieën zal zijn om pathologische symptomen en kenmerken (zie hieronder) van ZvP te voorkomen, beperken of om te keren.

De primaire uitkomstparameters zijn:

1. Het ontwikkelen van overmatige expressie van pathologische eiwitten in cellen die zijn geïnduceerd door de virale vector **OF** eiwitophoping als gevolg van de injectie van pathologische eiwitten
2. Afname van dopaminerge neuronen

De secundaire uitkomstparameters zijn:

3. Het ontstaan van inflammatie in het brein
4. Motorische veranderingen en/of cognitieve achteruitgang

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.

Het onderzoeksplan zal worden bepaald aan de hand van het type behandeling met betrekking tot de onderzoeksvraag en zal per studie aan de Instantie voor Dierenwelzijn (IVD) worden voorgelegd. Een studie wordt alleen ingezet als er voldoende aanwijzingen zijn uit eerdere studies dat de behandeling een gunstig effect zou kunnen hebben zonder dat er ernstige bijwerkingen optreden.

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

1. Een medicijn mag niet toxisch zijn dat het ernstige nevenwerkingen, die sterker invaliderend zijn dan ZvP, veroorzaakt. Vóórdat deze in het aapmodel worden gebruikt moet zij eerst uitgebreid *in vitro* (celkweek) of in kleine proefdieren getest zijn op de afwezigheid van toxiciteit.
2. De therapie is ontwikkeld voor een humaan doel/target molecuul, maar zal ook in de resus- en java-ape hetzelfde target molecuul moeten herkennen.
3. De werkzaamheid van een therapie moet eerst uitgebreid getest zijn *in vitro* of in kleine proefdieren alvorens deze getest kan worden in NHPs. Hierbij moet de therapie een aangetoond positief effect hebben op een pathofysiologisch proces bij ZvP.
4. De therapie is zo ver ontwikkeld dat het evalueren van de therapie in NHPs een laatste stap voor klinische translatie is.
5. Het beoogde target moet vanuit wetenschappelijk oogpunt een bijdrage leveren over de kennis van ZvP. Het onderzoek van een behandelmethode moet daarom het inzicht over het werkingsmechanisme dat ten grondslag ligt aan ZvP vergroten.
6. De therapie is specifiek voor primaten waardoor het niet in een ander diersoort kan worden getest. Of de therapie kan niet afdoende worden getest in een ander diersoort vanwege beperkte validiteit in deze diersystemen.

Er zal gebruik gemaakt worden in deze experimentele studies van het NHP-model voor ZvP (Bijlage 1). In het kort: op basis van een MRI zal er een stereotactische injectie plaatsvinden van een virale vector of eiwitten die leiden tot een pathologische eiwitophoping in het brein. De opeenstapeling van dit eiwit zal naar verwachting leiden tot cellulaire stress met als gevolg een afname van dopaminerge neuronen, en toename van neuroinflammatie. Op den duur zal dit leiden tot pathologie en symptomen behorend bij ZvP.

Naast de besproken aanpak in bijlage 1 zullen er in deze bijlage therapieën getest worden met als doel het beperken, voorkomen of omkeren van de eiwitophoping, neurodegeneratie, neuroinflammatie, motorische en cognitieve achteruitgang. Deze therapieën kunnen intracraniaal (i.c.), intraveneus (i.v.), intranasaal (i.n.) intrathecaal (i.t.), subcutaan (s.c.), intramusculair (i.m.) of oraal worden toegediend. Afhankelijk van de therapie zal de frequentie en toedieningsroute worden afgestemd. Hierbij zal er gebruik gemaakt worden van beschikbare literatuur en, indien deze nodig zijn, de resultaten van de farmacokinetiek en dynamiek studies (bijlage 2). Het effect van de therapieën wordt vervolgens beoordeeld op basis van de eerdergenoemde primaire uitkomstparameters.

Bij een i.c. toediening van de therapie kan er gebruikt worden gemaakt van een injectie in het brein. Hierbij kan er gebruik worden gemaakt van dezelfde operatietechniek die ook wordt gebruikt voor het injecteren van de virale vector en eiwitten. Afhankelijk van de te onderzoeken therapie en de strategie kan deze tegelijk worden toegediend gedurende dezelfde operatie (bij een i.c. toediening van de therapie), of op een later moment tijdens de studie.

Tijdens de studie zullen op verschillende momenten bloed- en hersenvochtproefnames (CSF) worden uitgevoerd om het effect van de virale vector en de eventuele behandelingen op biologische en immunologische processen te evalueren. Deze afnames vinden plaats onder sedatie, waarbij tegelijkertijd het lichaamsgewicht wordt gemeten om de algemene gezondheidstoestand van het dier te monitoren. De frequentie van het aantal bloedafnames varieert tijdens de studie en is afhankelijk de duur van de studie en de therapie en zal in overleg met de IvD per studie worden afgestemd, met een maximum van één afname per 24 uur. Daarbij wordt voor bloed strikt rekening gehouden met de richtlijn van maximaal 0,7% van het lichaamsgewicht per afname, en niet meer dan 1% per maand. Voor CSF-afnames geldt de richtlijn van een maximum van 2ml per dag. Het totaal aantal bloedafnames is afhankelijk van de duur van de studies, maar zal in de regel in het begin van een studie ongeveer wekelijks zijn, en in de langere termijn (>3 maanden) maandelijks zijn, de dieren zullen maximaal 12 maanden gevolgd worden na het induceren van het model. Alle experimentele handelingen zullen zoveel mogelijk gecombineerd worden tijdens een enkele sedatie om ongerief te besparen.

Tabel. Overzicht procedures, frequenties, duur en ongerief.

Handeling/procedure/ symptoom	Basisfrequentie	Duur per handeling	Omschrijving / onderbouwing	Mate van ongerief
----------------------------------	-----------------	-----------------------	--------------------------------	----------------------

Bloedafnames	Eerste 3 maanden: 1× per week. Daarna: 1× per maand. Max. 1× per 24 uur indien noodzakelijk.	± 30 min. incl. sedatie	Kortdurend prikongemak; uitgevoerd onder sedatie en volgens richtlijnen (max. 0,7% lichaamsgewicht per keer).	Licht
CSF-afnames	Eerste 3 maanden: 1× per week. Daarna: 1× per maand. Max. 1× per 24 uur indien noodzakelijk.	± 20 min. incl. sedatie	Kortdurend prikongemak; uitgevoerd onder sedatie en volgens richtlijnen (max. 2ml per dag/keer)	Licht
MRI	1× vóór de operatie.	± 60-120 min. incl. transport en sedatie	Noodzakelijk voor planning en evaluatie van stereotactische injecties.	Licht
PET-CT	Gekoppeld aan sedaties voor bloed/CSF-afnames.	± 60 min. incl. sedatie	Voorkomt extra sedatiemomenten. Voor longitudinale beeldvorming van pathologie.	Licht
Motorische scoring (Kurlan score)	Eerste 3 maanden: 1× per week. Daarna: 1× per maand, tenzij progressie zichtbaar. Extra scoring bij afwijkingen.	60 min.	Niet-invasief; subtiele motorische en cognitieve veranderingen worden gevolgd.	
Cognitieve scoring (XBI-Module)	Op vrijwillige basis, de XBI-module is aan de thuiskooi bevestigd	N.V.T.	Niet-invasief, de XBI maakt gebruik van de intrinsieke nieuwsgierigheid.	
Dagelijkse observatie	Dagelijks door getrainde verzorgers; bij afwijkingen aanvullend door dierenarts.	10 min. per dag	Essentieel voor welzijnsbewaking en signaleren humane eindpunten.	
Hersenoperatie (stereotactische injectie)	1× bij aanvang studie	2-3 uur incl. narcose en herstel	Craniotomie (enkele millimeters) onder narcose; lokaal ongemak en herstel. Uitgevoerd met moderne technieken en adequate pijnstilling.	Matig
Transport (voor MRI-faciliteit)	1× tijdens studie	± 2-3 uur incl. acclimatisatie	Stress door verplaatsing, beperkt door training en sedatie op locatie.	Matig
ZvP-symptomen		Geleidelijk	Verwachte lichte motorische en cognitieve symptomen; ernstige symptomen niet waarschijnlijk binnen 12 maanden.	Licht
Toediening therapie	Eenmalig of herhaaldelijk (max. 1× per dag), afhankelijk van studie	± 5-15 min. (zonder sedatie indien mogelijk)	Evaluatie van kandidaattherapieën	Licht

De beschreven frequenties, duur en aard van de handelingen zijn gebaseerd op de huidige wetenschappelijke inzichten en vormen de uitgangspunten voor de uitvoering van het onderzoek. Afhankelijk van de voortgang van het model en de specifieke onderzoeksvragen kan het echter noodzakelijk zijn om de planning of frequentie van bepaalde handelingen aan te passen. Dergelijke aanpassingen zullen uitsluitend plaatsvinden na

voorafgaand overleg en goedkeuring door de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD), zodat zowel de wetenschappelijke validiteit als het welzijn van de dieren optimaal worden gewaarborgd.

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

Voor de berekening van de groepsgrootte wordt uitsluitend uitgegaan van de twee primaire uitkomstparameters:

- i. Hoeveelheid pathologische eiwitophoping
- ii. Hoeveelheid dopaminerge neuronen (TH+ neuronen in de SN).

Deze variabelen worden behandeld als continue data en geanalyseerd met lineaire modellen (zoals ANCOVA of linear mixed models) die ook covariaten kunnen meenemen. Op basis van de verschillen en spreiding in deze primaire uitkomstparameters worden powerberekeningen uitgevoerd.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, levensstadia, geschatte aantallen per levensstadium, geslacht, genetische wijzigingen en, indien van belang voor het behalen van de doelstelling, de te gebruiken stam.

Volgnr.	Diersoort	Herkomst	Levensstadium	Aantal	Geslacht	Genetisch gewijzigd	Stam
1	Resusaap en Java-aap	Eigen Fok	Volwassen	72	M/V	NVT	NVT

Onderbouw de bovengenoemde keuzes.

Diersoort	Resusaap (<i>Macaca Mulatta</i>) en Java-aap (<i>Macaca Fascicularis</i>). Beide diersoorten zijn in recente studies gebruikt voor een succesvolle inductie met een virale vector ¹⁻⁶ . Daarnaast zijn de hersenen en het immuunsysteem van nonhumane primaten meer vergelijkbaar met de mens in vergelijking tot knaagdieren ^{7,8} . Voor gebruik van therapieën voor ZvP in mensen is het noodzakelijk dat deze therapieën gehumaniseerd moeten worden i.v.m. het immuunsysteem van de mens, derhalve is het nodig dat deze therapieën getest moeten worden in een primaten-model en kan dit niet in knaagdieren gedaan worden.
Herkomst	De dieren zijn afkomstig uit de interne fokkolonie van het eigen instituut, waardoor hun volledige medische, genetische en sociale achtergrond bekend is. Dit maakt zorgvuldige selectie mogelijk.
Levensstadia	Volwassen. ZvP is een ziekte die voorkomt bij volwassen en oudere mensen. Daarom wordt er gebruik gemaakt van dieren waarbij het centrale zenuwstelsel volledig ontwikkeld is.
Aantal	72. Op basis van de benodigde tijd voor het opzetten van het diemodel verwachten we dat we uiteindelijk maximaal 3 therapieën kunnen onderzoeken. Hierbij verwachten we dat we niet meer dan 24 dieren per studie nodig zullen hebben afhankelijk van de uitkomsten van de statistische poweranalyse, welke afhankelijk is van de therapie (bijlage 2) en de ernst van de primaire uitkomstparameters bij het diemodel (bijlage 1). Het berekende aantal dieren (3x24) gaat er van uit dat elke studie minimaal een controlegroep (n=12) en een behandelde groep (n=12) omvat. Hierbij is 24 dieren per studie de maximale totale hoeveelheid dieren en zal deze naar verwachting lager uitvallen door de statistische poweranalyse die uitgevoerd kan worden na het opzetten van het diemodel (bijlage 1).
Geslacht	M/V. Zowel mannen als vrouwen kunnen gebruikt worden voor het onderzoek. Het is niet aannemelijk dat er verschillen zullen zijn in het ontwikkelen van symptomen en pathologie door de virale vector/eiwitten op basis van het geslacht. Bovendien is de incidentie van ZvP bij mannen (60%) en vrouwen (40%) ongeveer gelijk ⁹ .
Genetisch gewijzigd	NVT
Stam	NVT

C. Huisvesting en verzorging

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

☒ Ja

☐ Nee > 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.

D. Pijn en welzijnsaantasting

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

☐ Nee >

☒ 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.

Indien er pijn optreedt zal er op basis van de evaluatie van de dierenarts verdoving, pijnstilling of eventuele andere pijnverlichtingsmethodes worden toegepast. Indien mogelijk wordt er voor analgesie gekozen die niet interfereert met het experiment.

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. Ongerief door transport van de dieren
2. Ongerief door de operatie en het herstel hiervan
3. Ongerief door sedaties en het ontwaken uit sedatie
4. Ongerief door verminderde eetlust na achtereenvolgende sedaties
5. Ongerief door het ontwikkelen van symptomen behorend bij ZvP

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. Transport zorgt voor stress bij de dieren
2. Tijdens de operatie wordt er geïnjecteerd op een specifieke locatie in de hersenen van het dier. Dit vereist anesthesie, en er moet een gat in de schedel worden geboord, wat lokale irritatie en pijn kan veroorzaken op de plaats van de ingreep.
3. Voor verschillende experimentele handelingen (bijv. bloedafnames) worden de dieren gesedeerd. Sedatie kan lichte vormen van ongerief veroorzaken bij ontwaken, zoals verminderde eetlust en desoriëntatie.
4. Voor de sedatie moeten dieren nuchter zijn, wanneer er meerdere kort achtereenvolgende sedaties zijn kan dit leiden tot verminderde voedselinname.
5. Dieren kunnen symptomen ontwikkelen die kenmerkend zijn voor ZvP, zoals motorische afwijkingen en gedragsveranderingen. Deze symptomen zijn inherent aan het ziekteproces en kunnen een extra bron van stress zijn voor de dieren. Op basis van eerdere literatuur wordt niet verwacht dat de dieren ernstige symptomen zullen ontwikkelen⁴.

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

1. De dieren zullen gecontroleerd worden getraind om in een transportkooi te lopen, wat de stress van het transport aanzienlijk kan verminderen. Het transport is nodig voor de MRI-faciliteiten, op de locatie van de MRI-faciliteit zullen de dieren worden gesedeerd in het transportvoertuig waardoor stress op de MRI-faciliteit wordt voorkomen. Hierna zullen de dieren ook weer ontwaken in het transportvoertuig.
2. De dieren krijgen narcose en pijnstilling tijdens de operatie om pijn en irritatie zoveel mogelijk te voorkomen en het herstel van de operatiewond te bevorderen. Door met moderne chirurgische methodes en planningstechnieken te werken kan de craniotomie zo klein mogelijk gehouden worden (enkele millimeters). Daarnaast wordt de operatie uitgevoerd door ervaren personeel van een gespecialiseerd instituut.
3. Bloed- en CSF-afnames onder narcose zullen worden uitgevoerd door ervaren personeel om het ongerief van de prikken zoveel mogelijk te minimaliseren. Daarnaast worden alle dieren intensief getraind om te wennen aan experimentele procedures. Ongerief van inspuitingsplaatsen zal naar verwachting licht zijn. Het herstel van de dieren achteraf wordt in de gaten gehouden en een dierenarts

zal geconsulteerd worden wanneer er problemen/afwijkingen van het normale gedrag worden waargenomen.

4. Bij herhaalde sedaties (>3 achtereenvolgende dagen) krijgen de dieren aanvullende voeding (sondevoeding bij langdurige sedaties of brokkenballen) om gewichtsverlies als gevolg van de sedaties te voorkomen. De dieren zullen dagelijks geobserveerd worden om ervoor te zorgen dat de gezondheid gewaarborgd wordt.
5. De symptomen van ZvP zullen inherent zijn aan het model. De impact hiervan wordt geminimaliseerd door de dieren goed te monitoren en indien nodig maatregelen te treffen in overleg met de dierenarts. Door bij het opzetten van de modellen te kiezen om te beginnen met een lage dosis voor de vector/eiwitten wordt verwacht dat eventuele symptomen en pathologie zich langzaam zullen ontwikkelen, waardoor er ruimte is voor een zorgvuldige observatie van de dieren. Daarnaast hebben longitudinale studies aangetoond dat ernstige symptomen na 18 maanden niet voor zijn gekomen.

E. 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 F.

☒ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Op basis van eerdere studies met soortgelijke studie-opzet²⁻⁷ wordt er niet verwacht dat de dieren een humaan eindpunt zullen bereiken. Alle dieren worden dagelijks beoordeeld door ervaren diervverzorgers/dierenartsen hierbij wordt extra rekening gehouden met het ontstaan van motorsymptomen. Daarnaast, als een dier tijdens de studie tekenen vertoont van ernstige gedragsveranderingen (zoals aanhoudende lethargie, apathie of sterk afwijkend sociaal gedrag), significant gewichtsverlies (>20%) binnen een week of andere duidelijke ziekteverschijnselen, wordt in overleg met de dierenarts beoordeeld hoe te handelen. Naast de dagelijkse beoordeling wordt met een vooraf afgestemde frequentie gebruik gemaakt van een klinische score voor Parkinsonsymptomen (Kurlan score, Appendix 1). Wanneer een bepaalde klinische score wordt bereikt (>20, ernstig parkinsonisme), zal het dier op humane wijze worden geëuthanaseerd. Indien er motorafwijkingen worden geconstateerd tijdens de standaard dagelijkse observatie kan het dier extra klinisch gescoord worden voor de Parkinsonsymptomen (Appendix 1), boven op de vooraf ingeplande momenten voor klinische scoring voor Parkinson om de humane eindpunten te bewaken.

Daarnaast zijn er risico's verbonden aan het uitvoeren van de injecties in de hersenen. Risico's van de operatie zijn intracraniale bloedingen, infectie en epilepsie. Deze risico's worden geminimaliseerd door de zorgvuldige planning van het injectietraject waarbij grote bloedvaten worden vermeden. Bij elke medische procedure is er kans op een infectie, daardoor wordt er gewerkt onder aseptische condities en de craniotomie zal zo klein mogelijk blijven (enkele millimeters). De huid zal na de operatie gehecht worden wat de kans op infectie aanzienlijk verkleint. Als er een epileptische aanval plaatsvindt zal het dier in overleg met de dierenarts behandeld worden en zal de onderliggende oorzaak onderzocht en behandeld worden.

De operatie wordt uitgevoerd door medewerkers van een ander instituut die ervaring heeft met het uitvoeren van dergelijke hersenoperaties bij nonhumane primaten en bij dit instituut hebben er geen epileptische aanvallen plaatsgevonden in >10 jaar van hersenchirurgie op nonhumane primaten.

In gevallen waarbij het welzijn van het dier onomkeerbaar is aangetast, zal het dier volgens humane eindpunten (zoals hierboven beschreven) onmiddellijk uit de studie worden genomen en worden geëuthanaseerd om verder lijden te voorkomen.

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

0-5%.

F. Classificatie van ongerief

Benoem de experiment gebonden factoren die bijdragen aan het ongerief en geef voor elk van deze factoren aan hoe het ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig'. Geef per diersoort en behandelgroep het cumulatieve ongerief aan in percentages van het totale aantal dieren.

De experiment gebonden factoren zijn genoemd in de tabel bij onderdeel A. Hierin is een extra kolom toegevoegd waarbij het ongerief wordt geclassificeerd. Het cumulatieve ongerief van alle dieren die onderdeel zijn van deze experimenten wordt geclassificeerd op matig. Het ongerief wordt vooral bepaald door herhaalde bloed- en CSF-afnames en sedaties.

G. 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	Omdat ZvP een complexe neurodegeneratieve aandoening is die niet alleen het centrale zenuwstelsel treft maar ook invloed uitoefent op het perifere immuunsysteem en andere systemische processen is het niet mogelijk om de werking van nieuwe therapieën en de interacties met al deze processen te onderzoeken met behulp van in vitro modellen of modelorganismen die verder van de mens af staan. Om geavanceerde therapieën betrouwbaar te vertalen naar patiënten met ZvP is het van belang dat er gebruik gemaakt wordt van een diermodel waarbij de neuroanatomie en immuunrespons zo dicht mogelijk bij de mens staat. Het DNA van NHPs komt voor ongeveer 95% overeen met mensen, i.t.t. 85% bij knaagdieren. Deze hoge genetische overeenkomst bij NHPs leidt ertoe dat hersenstructuren zoals de prefrontale cortex, hippocampus, basale ganglia en substantia nigra sterke overeenkomsten vertoont met de mens. Deze regio's spelen een belangrijke rol bij neurodegeneratieve ziektes zoals ZvP. Daarnaast bieden in vitro technieken belangrijke inzichten in cellulaire processen. Echter, blijven deze systemen beperkt tot geïsoleerde processen. Dergelijke modellen zijn niet in staat om complexe interacties tussen verschillende hersengebieden en immuunrespons na te bootsen. Bovendien bieden in vitro technieken niet de mogelijkheid om systemische verspreiding van eiwitten en eiwitophoping te modelleren of om de gevolgen en symptomen te meten op gedragsniveau. Voor het betrouwbaar evalueren van nieuwe therapieën is het bovendien noodzakelijk dat het doelmolecuul (target) door het model wordt herkend. Veel therapieën worden specifiek ontwikkeld voor humane targets die niet, of slechts beperkt, aanwezig zijn in knaagdieren. Bij NHPs zijn deze targets door de grotere genetische overeenkomst vaak wel beschikbaar. Daarom zijn NHPs het enige geschikte model om te gebruiken als laatste preklinische stap omdat de translationele en voorspellende waarden van deze dieren hoog zijn voordat dergelijke therapieën klinisch getest kunnen worden.
Vermindering	Bij het opzetten van het model wordt gestreefd naar een minimale inzet van dieren zonder concessies te doen aan de wetenschappelijke validiteit. Deze sequentiële aanpak voorkomt dat er onnodig veel dieren worden gebruikt. Bovendien zullen waar mogelijk dieren ook dienen als hun eigen controle door unilateraal het model te induceren of de therapie toe te passen. Hierdoor zullen ziektesymptomen unilateraal optreden en kan de contralaterale zijde gebruikt worden ter controle. Daarnaast zullen er zoveel mogelijk weefsels worden opgeslagen in een biobank. Dit maakt het mogelijk om ook later nog hypothesen te onderzoeken en additionele analyses uit te voeren op dit materiaal. Door de geavanceerde neurochirurgische aanpak is de kans van slagen erg groot waardoor er in totaal minder dieren nodig zullen zijn om uiteindelijk therapieën te onderzoeken.
Verfijning	De gekozen strategie door het gebruiken van AAV-vectoren (het gebruik van een virale vector die gericht bepaalde celtypen infecteert om overmatige expressie van een specifiek eiwit te induceren) is een voorbeeld van verfijning, omdat hiermee nauwkeurig controle kan worden uitgeoefend over de locatie, timing en mate van eiwitexpressie. Dit voorkomt diffuse of systemische effecten die onnodige belasting voor het dier kunnen veroorzaken. Daarnaast worden er moderne operatietechnieken, continue monitoring en verfijnde gedragsobservaties ingezet om stress en ongemak te minimaliseren. Het gebruik van PET-CT zal alleen plaatsvinden wanneer dieren al gesedeerd worden voor het samplen van bloed en zal dus niet voor extra ongerief zorgen. Daarnaast biedt PET-CT de mogelijkheid om longitudinaal verandering te meten in de dieren zonder invasieve technieken te gebruiken. Alle procedures worden uitgevoerd door ervaren personeel en

onder anesthesie of sedatie waar nodig, met adequate postoperatieve zorg. Tot slot worden humane eindpunten strikt gehanteerd om onnodig lijden tijdig te voorkomen.

Reference List

- 1 Rico, A. J. et al. Development and characterization of a non-human primate model of disseminated synucleinopathy. *Front Neuroanat* **18**, 1355940 (2024). <https://doi.org/10.3389/fnana.2024.1355940>
- 2 Yang, W. et al. Mutant alpha-synuclein causes age-dependent neuropathology in monkey brain. *J Neurosci* **35**, 8345-8358 (2015). <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0772-15.2015>
- 3 Chocarro, J. & Lanciego, J. L. Adeno-associated viral vectors for modeling Parkinson's disease in non-human primates. *Neural Regen Res* **21**, 224-232 (2026). <https://doi.org/10.4103/NRR.NRR-D-24-00896>
- 4 Koprach, J. B., Johnston, T. H., Reyes, G., Omana, V. & Brotchie, J. M. Towards a Non-Human Primate Model of Alpha-Synucleinopathy for Development of Therapeutics for Parkinson's Disease: Optimization of AAV1/2 Delivery Parameters to Drive Sustained Expression of Alpha Synuclein and Dopaminergic Degeneration in Macaque. *PLoS One* **11**, e0167235 (2016). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167235>
- 5 Liu, S. et al. An accelerated Parkinson's disease monkey model using AAV-alpha-synuclein plus poly(ADP-ribose). *Cell Rep Methods* **4**, 100876 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.crmeth.2024.100876>
- 6 Sucunza, D. et al. Glucocerebrosidase Gene Therapy Induces Alpha-Synuclein Clearance and Neuroprotection of Midbrain Dopaminergic Neurons in Mice and Macaques. *Int J Mol Sci* **22** (2021). <https://doi.org/10.3390/ijms22094825>
- 7 Tseng, C.-M. L., Faggioni, R. & Roskos, L. K. In *The Nonhuman Primate in Nonclinical Drug Development and Safety Assessment* (eds Joerg Bluemel, Sven Korte, Emanuel Schenck, & Gerhard F. Weinbauer) 359-375 (Academic Press, 2015).
- 8 Clemons, D. J., Meador, V., Weinbauer, G. F. & Wakefield, G. A. in *Nonhuman Primates in Biomedical Research* (eds Christian R. Abee, Keith Mansfield, Suzette Tardif, & Timothy Morris) 493-510 (Academic Press, 2012).
- 9 Bloem, B. R., Okun, M. S. & Klein, C. Parkinson's disease. *Lancet (London, England)* **397**, 2284-2303 (2021). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00218-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00218-X)

Zijn er nadelige milieueffecten te verwachten?

☒ Nee

☐ Ja > Benoem de te verwachten milieueffecten en geef aan welke maatregelen zijn genomen om deze tot een minimum te beperken.

H. Hergebruik

Worden er dieren ingezet die eerder in een andere dierproef zijn gebruikt?

☐ Nee, ga verder met vraag I.

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

Dieren kunnen worden hergebruikt als dit geen invloed heeft op de uitkomsten van de huidige studie. De gezondheid en het welzijn van de dieren worden vooraf zorgvuldig beoordeeld door een dierenarts. Het cumulatieve ongerief of blijvende effecten van eerdere studies sluiten hergebruik uit.

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

☒ Nee

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

I. Herhaling

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

Niet van toepassing.

J. Plaats waar de dierproef wordt uitgevoerd

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 K.

☐ 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?

K. Bestemming van de dieren bij einde experiment

Worden de dieren gedood?

☐ Nee > Beschrijf de bestemming van de dieren.

☒ Ja > Geef aan waarom de dieren worden gedood.

De dieren zullen worden gedood aan het einde van de studie om onderzoek te kunnen doen naar de biologische respons op de virale vector. Daarnaast zal er gekeken worden naar de bio-distributie van de virale vector en de neurologische respons.

Indien dieren worden gedood, wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van Richtlijn 2010/63/EU toegepast?

☐ Nee > Beschrijf de dodingsmethode en onderbouw de keuze hiervoor.

☒ Ja > Betreft het een dodingsmethode die alleen onder specifieke voorwaarden mag worden toegepast?

☒ Nee > Beschrijf de dodingsmethode

De dieren worden eerst onder narcose gebracht met een mix van twee verschillende anesthetica: Medetomidine en Ketamine. Wanneer het dier vervolgens onder narcose is wordt het euthanasaat (Euthazol/Phenytoin/Pentobarbital) toegediend.

☐ Ja > Beschrijf de dodingsmethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Indien dieren worden gedood, maar niet in het kader van de proef, geef aan of herplaatsing is overwogen en waarom hiervan is afgezien.

N.V.T.

Format DEC-advies

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

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

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD^{5.1.2.e} 202519083
2. Titel van het project: Evaluatie van therapieën voor de behandeling van Parkinson
3. Titel van de NTS: Evaluatie van therapieën voor de behandeling van Parkinson
4. Type aanvraag:
nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:
naam DEC: ^{5.1.2.e}
telefoonnummer contactpersoon: ^{5.1.2.e}
mailadres contactpersoon: ^{5.1.2.e}
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
ontvangen door DEC: 28-08-2025 (ontvangen van CCD 10-09-2025)
aanvraag compleet: 03-12-2025
in vergadering besproken: 12-09-2025; 10-10-2025; 12-12-2025
anderszins behandeld
termijnonderbreking(en): van 16-09-2025 tot 01-10-2025; van 16-10-2025 tot 03-12-2025
besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen :nvt
aanpassing aanvraag: 01-10-2025, 03-12-2025
advies aan CCD: 21-12-2025
7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD.
De aanvrager heeft het projectvoorstel afgestemd met de IvD en het met instemming van de IvD ingediend bij de DEC.

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

8. Eventueel horen van aanvrager: NVT
9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: 16-09-2025
- Gestelde vragen betroffen de volgende onderwerpen
 - Vraagstelling (fundamenteel en toegepast)
 - Kennisleemtes
 - De niet motorische aspecten van ZvP in het model.
 - Onderbouwing keuze tussen AAV en eiwit voor inductie
 - Beschrijving alternatieven in de inleiding
 - Doel van het onderzoek (testen therapie en kennisvermeerdering?)
 - Samenwerkingen en zicht op te testen therapieën
 - Formulering uiteindelijk doel
 - Haalbaarheid
 - Tijdspad
 - Positionering van het onderzoek in het ontwikkeltraject van de te testen therapie.
 - Huisvestingsconsequenties voor de dieren
 - Belang voor het onderzoeksveld en aanvrager
 - Woordkeuze waar ongerief wordt bedoeld
 - Beperking van ongerief waar het ZvP symptomen betreft
 - Benoemen integriteit
 - Belang voor de industrie
 - Strategie verduidelijken, go / no-go momenten
 - Onderbouwing aantallen
 - Definitie primaire en secundair uitkomstparameters
 - Definitie van werkzaam model voor ZvP
 - Onderbouwing keuze tussen resus en java aap
 - Onderlinge afhankelijkheid van de drie bijlages
 - Entree criteria te testen middelen
 - Onderbouwing controlegroepen
 - Statistisch onderbouwing aantallen
 - Hergebruik dieren (is dat aan de orde?)
 - Specificatie van de handelingen
 - Verfijning van stereotactische meting
 - Verfijning bloedafnames
 - Combineren van meerdere handeling op zelfde tijdstip
 - Methode en maximale afname van CSF
 - Specificatie van ongerief per handeling
 - Beeldvormende technieken
 - Transport van de dieren
 - Beschrijving gedragstesten en meting cognitie
 - Meting neuroinflammatie
 - Verwachte ongerief ten gevolge van ZvP
 - Toepassing Kurlan-score bij bereiken humane eindpunt
 - Ongerief ten gevolge van intra-craniale injecties
 - Gebruik van hetzelfde dier bij het testen van meerdere doses in PK/PD studies
 - Noodzaak beide geslachten voor PK/PD testen
 - Ongerief ten gevolge van verschillende injectietechnieken
- Datum antwoord: 01-10-2025
- De aanvrager gaf aan dat nog niet alle vragen waren beantwoord. De DEC heeft voor zover er antwoord was op de gestelde vragen deze besproken en naar aanleiding daarvan nog additionele vragen gesteld
- Datum: 16-10-2025
- Gestelde vraag/vragen betroffen de volgende onderwerpen
 - Allen antwoorden op de vragen ook verwerken in de aanvraag

- Geschiktheid model voor testen cognitieve veranderingen
 - Onderbouwing keuze model (diersoort, injectie methode eiwit)
 - Beschrijving metingen primaire en secundaire uitlees parameters en eventuele training van de dieren
 - Onderbouwing aantal dieren in bijlage 1
 - Wordt een therapie in een of in meerdere modellen getest?
 - Statistische onderbouwing aantallen
 - Beschrijving i.c. toediening in bijlage 2
 - Belasting PET/CT scans
 - Opname XBI-module testen bij de uit te voeren handelingen
 - Entree criteria voor bijlage 2
 - Onderbouwing 2 geslachten in bijlage 2
- Datum antwoord: 02-12-2025
 - Alle vragen zijn naar tevredenheid beantwoord en verwerkt in de aanvraag

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

- NVT

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.
3. Is de DEC competent om hierover te adviseren?
De commissie heeft voldoende expertise, inbegrepen de immunologie, neurobiologie, statistische analyse, onderzoek met niet-humane primaten, en toepassing van alternatieven op deze gebieden. Ook is er voldoende expertise op gebied van ontwerp van dierproeven, proefdiergeneeskundige praktijk, het houden en verzorgen van dieren, ethiek en proefdieren en hun bescherming. De DEC heeft ook de ervaring in haar midden met het beoordelen van onderzoek naar kandidaat geneesmiddelen tegen virale infecties in niet-humane primaten.
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.
NVT

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*).
De ziekte van Parkinson (ZvP) kan worden veroorzaakt door omgevingsfactoren, maar ook genetische aanleg kan een rol spelen. De oorzaak van de ziekte is niet volledig bekend, hoewel wel duidelijk is dat bepaalde zenuwcellen afsterven. De huidige medicatie die beschikbaar is, vermindert wel symptomen, maar stopt de voortschrijding van de ziekte niet. Recent is ontdekt dat de ophoping van eiwit en met name α -synucleïne, in de substantia nigra een rol speelt in de pathologie. Doordat dit eiwit zich verkeerd vouwt vormt dit (mede) een oorzaak voor het

ontstaan van ZvP. Daarmee is dit eiwit van belang om te bestuderen bij onderzoek naar het ontstaan van ZvP en als doelwit voor therapie. Het project beoogt een model voor ZvP op te zetten in resus en/of java apen door middel van het toedienen van een pathologische vorm van α -synucleïne. Dit kan op twee manieren worden gedaan, namelijk door injecteren van eiwit of door een (adeno)virale vector (AAV). Zo'n model kan dan gebruikt worden voor het testen van nieuwe therapieën en de rol van pathologisch α -synucleïne in het ontstaan van ZvP. De aanvrager zal pas een model opzetten wanneer er zicht is op een therapeutische interventie die aangrijpt op α -synucleïne en de pathologische gevolgen hiervan. Dat zal ook de keuze van de diersoort bepalen en de vorm van het α -synucleïne waarmee de ziekte geïnduceerd wordt (via een AAV of door directe toediening van een pathologisch α -synucleïne in het brein). Er zal stapsgewijs worden gewerkt en daarbij zal gestart worden met een zeer klein aantal dieren om na te gaan of de verwachte pathologische veranderingen in het brein optreden. Indien er meetbare veranderingen optreden, zal de beoogde therapie getest worden. Indien nodig zal dit worden voorafgegaan door een PK/PD studie.

De vertaling van de doelstellingen naar de experimenten is inzichtelijk en herleidbaar. Het is helder welke handelingen individuele dieren zullen ondergaan. Op basis hiervan is ook herleidbaar welk ongerief individuele dieren zullen ervaren. De DEC is dan ook van mening dat de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft.

2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Wet Natuurbescherming).
Er is, zover de DEC kan overzien, geen tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan.
3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel.
De aangegeven doelcategorieën, 'fundamenteel' en 'translationeel of toegepast onderzoek', sluiten aan bij het projectvoorstel. Er zal meer inzicht komen in de rol van α -synucleïne bij het ontstaan van ZvP. Deze fundamentele kennis zal van belang zijn voor verdere ontwikkelingen van therapieën voor ZvP. In deze projectaanvraag zal ook een model voor ZvP worden opgezet en worden nieuwe therapieën getest op hun vermogen om de ZvP te behandelen en het project kan daarom tevens als translationeel worden aangemerkt.

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C4; zie bijlage I voor voorbeeld*).
Het uiteindelijke doel van het project is het bijdragen aan het beschikbaar komen van effectieve middelen voor de behandeling van de ZvP. Het directe doel van het project is het opzetten van een model voor ZvP in niet-humane primaten en het testen van middelen die aangrijpen op het door α -synucleïne geïnitieerde proces van ziekteontwikkeling. Indien noodzakelijk, zullen van de te testen middelen een PK/PD profiel in de aap worden bepaald.
Wereldwijd zijn er $\pm$ 15 miljoen ZvP patiënten en het aantal neemt de laatste jaren

sterk toe. Het is een ziekte die al heel lang bestaat, maar mogelijk neemt de incidentie toe door gebruik van bepaalde bestrijdingsmiddelen in de land- en tuinbouw. De huidige behandelingen met o.a. levodopa verlichten de symptomen, maar stoppen het voortschrijdende proces van de ziekte niet. Er is duidelijk een behoefte aan therapieën die het ziekteproces stoppen. Daarvoor is meer kennis nodig over hoe de ZvP ontstaat zodat er gericht kan worden ingegrepen in het ziekteproces. Omdat recent is gebleken dat eiwitophoping een pathologische rol speelt, en met name α -synucleïne, is onderzoek naar therapieën die ingrijpen in dit eiwitophopingsproces en de achterliggende mechanismen van belang. Op termijn zal dit kunnen leiden tot betere behandeling van ZvP. De DEC is van mening dat er een reële relatie is tussen het directe doel van deze projectaanvraag en het uiteindelijke doel.

5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage 1 voor voorbeeld*)
- De belangrijkste belanghebbenden zijn de patiënten, de proefdieren, de farmaceutische industrie, de onderzoeker en het onderzoeksveld.
- Voor de patiënten is het beschikbaar komen van effectieve therapieën die de progressie van de ZvP kunnen stoppen van groot belang omdat de huidige behandelwijzen alleen verlichting van symptomen geeft.
- Het belang voor de samenleving is dat met een betere behandeling van ZvP de zorgbehoefte zal afnemen en patiënten langer aan het arbeidsproces kunnen deelnemen. Waarden die voor de proefdieren in het geding zijn: de integriteit van de dieren zal worden aangetast, de dieren zullen stress ondervinden, mogelijk ziek worden en soms pijn ondervinden. De dieren zullen worden gedood om het ziekteproces te kunnen bestuderen en de effectiviteit van behandelingen te kunnen beoordelen.
- De farmaceutische industrie kan effectieve middelen ontwikkelen voor de markt en heeft een economisch belang.
- Het onderzoeksveld en de onderzoeker krijgen nieuwe informatie die wordt gedeeld
- 5.1.2e publicatie(s).

6. Is er aanleiding voor de DEC om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken?
- Er zijn geen substantiële milieueffecten te verwachten binnen de kaders of ten gevolge van dit project.

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C5*).
- De onderzoeksgroep heeft uitgebreide ervaring met onderzoek in niet-humane primaten inclusief neurologisch en gedragsonderzoek deels ook toegespitst op ZvP. Voor het toedienen van AAVs zal worden samengewerkt met andere instellingen die al ervaring hebben met vergelijkbare modellen in kleinere proefdiersoorten en met injecties in de hersenen bij niet-humane primaten. Dit zal de kwaliteit van het onderzoek waarborgen. De aanvragende instantie heeft alle kennis van het houden en verzorgen van niet-humane primaten in huis. De DEC is er mede hierdoor van overtuigd dat het onderzoek haalbaar is.
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).*

De DEC is ervan overtuigd dat het onderzoek goed is opgezet met logische stappen. Een model zal alleen opgezet worden als er zicht is op een daadwerkelijke kandidaat therapeuticum dat in dat model getest moet worden op effectiviteit. Er zijn heldere entree criteria waaraan een therapeuticum moet voldoen voordat deze ook werkelijk getest zal worden op effectiviteit. Ook zijn heldere GO/NO GO beslismomenten geformuleerd voor het al dan niet uitvoeren van deelstudies. De voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters zijn logisch en helder gekozen en sluiten aan bij de aangegeven doelstellingen. Primair zal worden onderzocht of eiwitophoping in het brein kan worden voorkomen door de behandeling. Daarnaast zal naar effecten op het gedrag van de dieren worden gekeken inclusief een test op cognitie. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen naar de mening van de DEC leiden tot het behalen van de doelstelling in het kader van het project.

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)

ZvP is een complexe neurodegeneratieve ziekte waarbij naast neurologische ook andere (immunologische) processen een rol spelen. Hoewel er zowel met gebruikmaking van humaan weefsel en experimenten in knaagdieren al veel onderzocht kan worden, is het niet mogelijk om daarmee betrouwbare voorspellingen te doen over de werkzaamheid van therapieën die in het complexe mechanisme van de ZvP ingrijpen. Ook zijn de targets van de therapieën vaak wel aanwezig in mens en niet-humane primaat maar niet altijd in andere diersoorten.

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

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. De huisvesting en verzorging voldoet aan de vereisten in bijlage III.
11. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2).*

Het ongerief is voor alle dieren correct als matig ingeschat. De dieren zullen narcose ondergaan voor stereotactisch geleide intracraniale injectie en meermaals sedatie ondergaan voor bloedafnames, CSF afnames en MRI, PET/CT scans. Daarnaast kunnen de dieren in appendix 1 en 3 ongerief ervaren van de intracraniale toediening van AAVs en de symptomen van ZvP. In combinatie zijn de gevolgen van deze handelingen terecht als matig ongerief ingeschat. Door implementatie van humane eindpunten op basis van klinische symptomen wordt ernstig ongerief voorkomen.

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 die voor PK/PD studie (bijlage 2) worden gebruikt, wordt aangetast door de toediening van het te testen middel en frequente bloedafnames. Deze aantasting van de integriteit is van voorbijgaande aard tenzij het noodzakelijk is deze dieren te doden voor onderzoek naar biodistributie van het middel. Bij de overige experimenten (appendices 1 en 3) wordt de integriteit van de dieren aangetast door de inductie van ZvP, narcose en de frequente sedaties voor bloedafnames, CSF afnames, MRI, PET/CT scans en in een deel van de dieren door toediening van de te testen middelen. De dieren worden aan het eind van de studie, of eerder bij het bereiken van een humaan eindpunt, gedood. Het doden van de dieren aan het eind van de effectiviteitsstudie is nodig om vast te kunnen stellen of het middel de eiwitophoping inderdaad heeft gestopt en of er een vermindering is van het afsterven van het aantal dopaminerge cellen.
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*).
- Naar de mening van de DEC zijn de humane eindpunten zorgvuldig beschreven en is de kans dat dieren een humaan eindpunt zullen bereiken adequaat ingeschat als zijnde klein. Dieren die ZvP kunnen ontwikkelen zullen worden gescoord aan de hand van een uitgebreid scoring systeem. Het is helder wanneer er een humaan eindpunt wordt bereikt. Bij PK/PD-studies kunnen onverwachte bijwerkingen optreden. Met name wanneer er intra-craniale toediening is van een middel. Door ervaren personeel in te zetten zullen de risico's hiervan tot een minimum beperkt worden.

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 ZvP is een complexe ziekte die niet alleen is beperkt tot de neuronale cellen van het centraal zenuwstelsel, maar ook het immuunsysteem speelt daarbij een belangrijke rol. De recente bevinding dat eiwitophoping in het brein een rol speelt bij deze ziekte onderstreept deze complexiteit die niet *in vitro* kan worden nagebootst. Hoewel *in vitro* technieken wel worden ingezet om potentiële therapieën te testen en om aan te tonen dat middelen inderdaad binden aan de beoogde target van de therapie, is het niet mogelijk de werkzaamheid op het onderdrukken van de ziekte aan te tonen zonder een dierproef. Omdat de therapieën worden ontwikkeld voor toepassing bij de mens, zullen de targets vooral werkzaam zijn in een diersoort die sterkt lijkt op de mens wat betreft neuroanatomie en het immuunsysteem. Alleen middelen die al bewezen niet toxisch zijn en waar mogelijk ook al op werkzaamheid zijn getest in kleinere diersoorten zullen, als laatste stap voor klinische studies, in niet-humane primaten worden getest. De DEC is ervan overtuigd dat door toepassing van de genoemde selectiecriteria voor de te testen middelen, er geen andere

mogelijkheid is de effectiviteit te testen.

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*).
Het aantal dieren dat nodig is voor de studies voor het opzetten van een ZvP model (bijlage 1) is ingeschat op 24. Nadat een keuze is gemaakt voor de diersoort en de wijze van inductie (met AAV of pathologisch eiwit) zullen 2 dieren de studie ingaan. Mogelijk zal dit herhaald worden met een aangepaste toediening of diersoort met nog eens 2 dieren. Wanneer er meetbare verschillen zijn in de primaire uitkomst parameters zullen nogmaals 2 dieren worden ingezet om het resultaat te bevestigen. De DEC is van mening dat hierbij het minimale aantal dieren per studie zal worden ingezet om een model op te zetten zodat dit in bijlage 3 kan worden gebruikt voor het testen van therapie. Bij de PK/PD-studies (bijlage 2) zullen maximaal 36 dieren worden ingezet. Dit aantal is gebaseerd op 3 te testen therapieën. Wanneer er verschillen in resultaten worden verwacht tussen de geslachten, zullen zowel mannen als vrouwen worden getest. Het aantal van 2 concentraties en 4 dieren per groep, acht de DEC een acceptabel aantal. Het aantal benodigde dieren voor de *in vivo* evaluatie van de effectiviteit van de middelen (bijlage 3) wordt bepaald met behulp van statische powerberekeningen op basis van de gegevens verkregen uit het opzetten van het ZvP model in bijlage 1. Er zullen maximaal drie effectiviteitsstudies worden uitgevoerd. De aanvrager heeft daarbij rekening gehouden met een groepsgrootte van 12 dieren, maar zal op basis van de gegevens van bijlage 1 middels een power berekening de uiteindelijke groepsgrootte berekenen. Het maximale aantal dieren in bijlage 3 is 72. De DEC is het eens met deze aanpak waardoor er niet onnodig veel dieren zullen worden ingezet. Omdat het in de NTS niet mogelijk is aan te geven dat er maximaal gebruikt gemaakt zal worden van 132 dieren en dat dit of resus of java apen zullen zijn, is daar aangegeven dat er voor beide soorten maximaal 132 dieren zullen worden ingezet. De keuze van de diersoort kan afhangen van de testen middelen.

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 uitvoering is verfijnd door gebruik te maken van sociaal gehuisveste dieren die goed aan mensen gewend zijn, de dieren zijn bovendien getraind om zo veel mogelijk mee te werken aan bepaalde dier technische handelingen, waardoor ze minder stress ervaren. Sedatie en pijnbestrijding zullen worden toegepast wanneer geïndiceerd. Bij onverwacht grotere welzijnsaantasting dan voorzien zal een humaan eindpunt worden toegepast. De DEC is ervan overtuigd dat het project voldoet aan de vereiste verfijningsmogelijkheden.

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.
NVT

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien

alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd. (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*; zie *bijlage I* voor voorbeeld).

Dieren van beide geslachten zullen worden gebruikt in het onderzoek, omdat de ZvP in gelijke mate kan optreden in beide geslachten. Alleen wanneer een therapie verschillend werkzaam kan zijn en mannelijke en vrouwelijke dieren, zullen beide geslachten in gelijke aantallen getest worden in bijlage 2. Hoewel de aanvrager dit niet aangeeft, kan dit consequenties hebben voor de keuze van het geslacht in bijlage 1 en 3.

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*).

Bij PK/PD-studies zullen de dieren in leven blijven aan het einde van het experiment tenzij het nodig is de biodistributie uitgebreid te bestuderen. Alle dieren waarbij ZvP wordt geïnduceerd worden gedood aan het einde van het experiment omdat het nodig is om de pathologische veranderingen in het brein te bestuderen. Dieren worden tijdens de studie gedood (en onderzocht) wanneer humane eindpuntcriteria worden bereikt, dit om verder ongerief te voorkomen (zoals gedefinieerd in de projectaanvraag). Er wordt een passende dodingsmethode gebruikt (conform bijlage IV van de richtlijn).

20. Indien dieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is.
Er worden geen dieren gedood om niet wetenschappelijke redenen.

NTS

21. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?
De DEC is van mening dat de niet-technische samenvatting het project inhoudelijk correct en in begrijpelijke taal beschrijft. Omdat het in de NTS niet mogelijk is aan te geven dat er maximaal gebruikt gemaakt zal worden van 132 dieren en dat dit of resus of java apen zullen zijn, is in de tabel aangegeven dat er voor beide soorten maximaal 132 dieren zullen worden ingezet. Beide diersoorten zijn even geschikt voor de in dit project voorgestelde experimenten.

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 3.A*).
Rechtvaardigt het opzetten van een model voor ZvP, het verkrijgen van kennis over het ontstaan van de ZvP, en het testen van nieuwe therapeutische middelen voor ZvP het cumulatief matig ongerief dat maximaal 132 niet-humane primaten in de experimenten ondergaan? Is het gebruik van niet-humane primaten in dit geval gerechtvaardigd of kan de gewenste informatie ook verkregen worden door het inzetten van andersoortige proefdieren of andere onderzoek modellen?

2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoetgekomen 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 ZvP treft in Nederland 4,5% van de mensen en wereldwijd zijn er 15 miljoen patiënten. De verwachting is dat dit aantal zal toenemen en in 2050 tot 25 miljoen is gegroeid. De DEC heeft stilgestaan bij dit aspect en hoewel ZvP een ziekte is die al heel lang bestaat is de recente en voorziene toename zorgelijk. Een mogelijke relatie met het veelvuldige gebruik van bestrijdingsmiddelen in de land- en tuinbouw is daarbij niet uit te sluiten. Maar ook zonder deze relatie is het van belang dat er voor deze zeer ernstige aandoening een effectieve therapie komt. Er is nog veel niet bekend over het mechanisme dat verantwoordelijk is voor het ontstaan van ZvP. De nu beschikbare middelen verminderen de symptomen voor patiënten, maar kunnen het voortschrijdende proces niet stoppen. De nu beschikbare onderzoeksmodellen zijn veelal gebaseerd op chemische inductie die geen verband houden met het ontstaansmechanisme van ZvP. Er is behoefte aan meer kennis van de ZvP en aan nieuwe therapieën die het neurodegeneratieve proces kunnen stoppen. Het in deze aanvraag te ontwikkelen model van ZvP in niet humane primaten sluit meer aan op de ontstaansgeschiedenis van ZvP bij de mens. De voordelen van dit onderzoek zijn zowel bevorderlijk voor patiënten en het algemene welzijn van de samenleving (minder zieken, minder belasting van de directe omgeving van patiënten) als economisch (minder ziekte die deelname aan de arbeidsmarkt beperkt, minder zorgkosten).

Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en de autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te laten ondergaan. Ze kunnen ziek worden en pijn ondervinden door bloedafnames, injecties en de symptomen van ZvP. De dieren ondervinden hiervan cumulatief maximaal matig ongerief.

De waarden voor het onderzoeksveld zijn toenemend wetenschappelijk inzicht in de rol van eiwitophoping in het brein in het ontstaan van ZvP en de mogelijke werking van middelen die dat kunnen tegengaan. De DEC vindt dit een belangrijk aspect van het project omdat vergroting van kennis kan leiden tot een betere aanpak van deze ziekte, niet allen wat betreft de behandeling, maar ook mogelijk de preventie daarvan. Daarmee is dit onderzoek belangrijk en het is de uitdrukkelijke bedoeling om dit te publiceren.

De waarde voor de farmaceutische industrie is het op de markt kunnen brengen van werkzame middelen voor ZvP, een economisch belang.

Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit werk op termijn leiden tot meer kennis over de ZvP en mogelijk het beschikbaar komen van een therapie die het neurodegeneratieve proces van ZvP kan stoppen. Het verwachte ongerief voor de dieren valt daarom meer te verantwoorden.

3. Beantwoord de centrale morele vraag. Maak voor het beantwoorden van deze vraag gebruik van bovenstaande afweging van morele waarden. Maak daarnaast gebruik van de volgende moreel relevante 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 concludeert dat de belangen van de samenleving en patiënten die worden nagestreefd in dit project zwaarder wegen dan de belangen/waarden van de betrokken proefdieren.

Het onderzoek is van groot belang voor mensen, omdat het ontwikkelen van een effectief middel voor ZvP dat de progressie van de ziekte kan stoppen de kwaliteit van leven voor patiënten en hun naaste omgeving zal verbeteren. Ook zullen de zorgkosten van de maatschappij zal verminderen, maar dit acht de DEC een belang dat op zich niet doorslaggevend is. Daarnaast kan dit onderzoek meer inzicht geven in de mechanismen die ten grondslag liggen aan het ontstaan van ZvP. Dit is van belang, omdat dan mogelijk nieuwe aangrijpingspunten kunnen worden geïdentificeerd voor verdere ontwikkeling van therapieën voor ZvP.

De kennis en kunde van de aanvrager wordt onderbouwd door de uitgebreide kennis van onderzoek met niet-humane primaten. Daarnaast wordt samengewerkt met onderzoekers die gespecialiseerd zijn in het toedienen van AAVs en eiwit in het brein van o.a. niet-humane primaten. De keuze voor deze diersoorten (resus en java aap) is gebaseerd op de fysiologische en neuro-anatomische overeenkomsten met de mens. De dieren zijn specifiek gefokt voor gebruik in onderzoek en worden sociaal gehuisvest. De 3V-principes worden gehonoreerd door hergebruik van dieren, en training van dieren voor het meewerken aan biotechnische handelingen. Het ongerief is maximaal matig. Humane eindpunten worden toegepast en zijn zorgvuldig beschreven.

De haalbaarheid van de doelstellingen van dit project wordt als hoog ingeschat. De te onderzoeken therapieën voor ZvP zijn in gevorderde stadia van ontwikkeling binnen het netwerk van de onderzoeksgroep. De kandidaat medicijnen zijn tevoren gekarakteriseerd in *in vitro* en *in vivo* (veelal knaagdieren) modellen en zijn niet toxisch. In de laatste fase van de preklinische ontwikkeling is het echter noodzakelijk om de effectiviteit en veiligheid te onderzoeken in een diemodel waarin de aard en verloop van de ziekte, alsmede de mogelijke interactie tussen kandidaat middel en de organen/weefsels, grote overeenkomsten vertonen met de mens. De effecten van de kandidaat middelen kunnen in het ZvP model alleen in de aap voldoende worden onderzocht op effectiviteit en het onderzoek kan ook meer inzicht geven in de mechanismen die ten grondslag liggen aan ZvP.

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

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- x De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
 - x 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.

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 uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.B*).
Er zijn geen knelpunten ondervonden; de inherente ethische dilemma's zijn hierboven uitgebreid uiteengezet.



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 neem telefonisch contact op. (0800-789 0789).

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

5.1.2.e

- 1.2 Wat voor aanvraag doet u?

- ☒ Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 1.3
- ☐ Wijziging > Vul hiernaast het AVD nummer van uw vergunde project in en ga verder met vraag 2.1
- ☐ Melding > Vul hiernaast het AVD nummer van uw vergunde project in en ga verder met vraag 2.2

- 1.3 Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.

Naam instelling of organisatie	5.1.2.e			5.1.2.e
Titel, voorletters en achternaam van de portefeuillehouder	Titel	Voorletters	Achternaam	
	5.1.2.e	5.1.2.e	5.1.2.e	

E-mailadres contactpersoon

Titel, voorletters en achternaam van de diens gemachtigde (indien van toepassing)	Titel	Voorletters	Achternaam	☐ Dhr. ☐ Mw
---	-------	-------------	------------	---

E-mailadres gemachtigde

Vul de gegevens van het postadres in.

Straat en huisnummer

Postcode en plaats

Postbus, postcode en plaats

- 1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.

(Titel) Naam en voorletters	5.1.2.e	5.1.2.e
Functie	5.1.2.e	
Afdeling	5.1.2.e	

1.5	(Indien van toepassing) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	Telefoonnummer	5.1.2.e
		E-mailadres	5.1.2.e @bprc.nl
		(Titel) Naam en voorletters	Dr. Nutma, E. ☒ Dhr. ☐ Mw.
		Functie	Postdoc
1.6	(Indien van toepassing) Vul hier de gegevens in van de persoon aan wie de portefeuillehouder de verantwoordelijkheid inzake de algemene uitvoering van het project en de overeenstemming daarvan met de projectvergunning heeft gedelegeerd.	Afdeling	Neurobiologie & Veroudering
		Telefoonnummer	
		E-mailadres	5.1.2.e @bprc.nl
		(Titel) Naam en voorletters	Prof. 5.1.2.e J ☒ Dhr. ☐ Mw.
1.7	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de Instantie voor Dierenwelzijn	Functie	5.1.2.e
		Afdeling	Animal Science Department
1.8	Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?	Telefoonnummer	5.1.2.e
		E-mailadres	5.1.2.e @bprc.nl
		☒ Ja > Stuur dan het ingevulde formulier <i>Melding Machtiging</i> mee met deze aanvraag ☐ Nee	

2 Over uw aanvraag

2.1	Gaat uw aanvraag over een <i>wijziging</i> op een vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn?	☒ Nee > Ga verder met vraag 3
		☐ Ja > Geef hier onder kort de wijziging en de onderbouwing daarvan weer. Geef in de originele formulieren (niet-technische samenvatting, projectvoorstel en bijlage dierproeven) duidelijk aan (bij voorbeeld in een andere kleur) waar de projectaanvraag 5.1.2.e daarna verder met vraag 6.
2.2	Gaat uw aanvraag over een <i>melding</i> op een vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn?	☒ Nee > Ga verder met vraag 3
		☐ Ja > Geef hier onder weer wat deze melding inhoudt en ga verder met vraag 6

3 Over uw project

3.1	Wat is de geplande start- en einddatum van het project?	Startdatum	1 - 11 - 2025
		Einddatum (t/m)	31 - 10 - 2030
3.2	Wat is de titel van het project?	Evaluatie van therapieën voor de behandeling van Parkinson	
3.3	Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?	Evaluatie van therapieën voor de behandeling van Parkinson	
3.4		Naam DEC	DEC-BPRC
		Postadres	5.1.2.e 3306, 5.1.2.e

Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) van voorkeur?

E-mailadres

5.1.2 a @bprc.nl

4 Factuurgegevens

- 4.1 (indien factuuradres afwijkt van de gegevens uit vraag 1.3) Vul de gegevens van het factuuradres in.

Naam:	Afdeling:	
Straat:		Huisnummer:
Postcode:	Plaats:	
Postbus:	Postcode:	Plaats:
E-mail:		

- 4.2 (optioneel) Vul hier het ordernummer van de instelling in.

Ordernummer:

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?

Verplicht

☒ Projectvoorstel Aantal bijlage(n) dierproeven 3

☒ Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen, indien van toepassing

☐ Melding Machtiging

☒ Appendix 1

6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD en per post naar de Centrale Commissie Dierproeven (voor adresgegevens zie website)

Ondertekening door de portefeuillehouder namens de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.8). 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 C van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
- dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
- dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam	
Functie	
Plaats	
Datum	- -
Handtekening	

Inventarislijst W25-02 - Deel 3

Doc. Nr.	Bestandsnaam	Weigeringsgrond	Vindplaats document	Tags
1	FW bespreken groot Wob verzoek rtl 4 tijdens jz-overleg.pdf	5.1.2.e, 5.1.2.h		Document deels openbaar
2	FW concept Besluit W21-02_aangepast 06012022 (002) (002).pdf	5.1.2.e, 5.1.2.h		Document deels openbaar
3	RE implementatie WOO.pdf	5.1.2.e, 5.1.2.h		Document deels openbaar
4	vraag over Woo-verzoek (2022-096).pdf	5.1.2.e, 5.1.2.h		Document deels openbaar
5	RE Woo-verzoek.pdf	5.1.2.e, 5.1.2.h, 5.2.1		Document deels openbaar
6	W23-01 besluit .pdf	5.1.2.e, 5.1.2.h		Document deels openbaar
7	RE update zaak .pdf	5.1.2.e, 5.1.2.h		Document deels openbaar
8	Gecombineerd DEC alg corresp.pdf		https://www.centralecommissiedierproeven.nl/documenten/22/3/15/wob-besluit-w21-02	Document reeds openbaar

From: "5.1.2.e"
Sent: Mon, 12 Apr 2021 12:51:14 +0200
To: "5.1.2.e" <5.1.2.e@rvo.nl>; "5.1.2.e" <5.1.2.e@rvo.nl>
Subject: FW: bespreken groot Wob verzoek 5.1.2.h tijdens jz-overleg
Attachments: Wob-verzoek W21-02.pdf, notitie 5.1.2.h wob verzoek.docx
Importance: High

Ha 5.1.2.e en 5.1.2.e

Ik heb het Wob-verzoek kort geëvalueerd en hierbij mijn gedachten op papier gezet. Het is wellicht handig als jullie dit document

voorafgaand aan het overleg ook doornemen.

Groet! 5.1.2.e

Van: 5.1.2.e
Verzonden: maandag 12 april 2021 11:31
Aan: 5.1.2.e <5.1.2.e@rvo.nl>
Onderwerp: bespreken groot Wob verzoek 5.1.2.h tijdens jz-overleg
Urgentie: Hoog

Dag 5.1.2.e

Bijgaand tref je het Wob-verzoek van 5.1.2.h aan. Dit verzoek hebben we vandaag ontvangen.

Het is een groot Wob-verzoek over de periode 1 januari 2019 tot en met heden.

We zullen dit Wob-verzoek tijdens het juridisch overleg bespreken. We willen dan graag de strategie bepalen. 5.1.2.h vraagt nl. om overleg met ons.

Fijn dat je erbij bent vandaag want deze vraag leent zich perfect voor het onderwerp waarvoor jij aansluit.

Groet! 5.1.2.e

From: "5.1.2.e"
Sent: Mon, 31 Jan 2022 07:21:13 +0100
To: "5.1.2.e" <5.1.2.e@rvo.nl>
Subject: FW: concept Besluit W21-02_aangepast 06012022 (002) (002)
Attachments: Gecombineerd DEC alg corresp.pdf, brief Uitgestelde verstrekking 5.1.2.h.docx, concept Besluit W21-02_aangepast 06012022 (002) (002).docx

Goedemorgen 5.1.2.e

Ik hop dat je terugkijkt op een lekker weekend!

Na je reactie op het bijgevoegde besluit (zie hieronder) wil ik vandaag het besluit en de stukken naar de derde-belanghebbenden versturen.

Ik hoor graag van je.

Groet 5.1.2.e en een fine dag he

Van: 5.1.2.e
Verzonden: dinsdag 25 januari 2022 21:35
Aan: 5.1.2.e <5.1.2.e@rvo.nl>
CC: 5.1.2.e <5.1.2.e@rvo.nl>
Onderwerp: concept Besluit W21-02_aangepast 06012022 (002) (002)

Beste 5.1.2.e

Hierbij een update iz het Wob-besluit van 5.1.2.h

Beperkt aangepast WOB-besluit 5.1.2.h

In het geel heb ik in het besluit nog enige aanpassingen doorgevoerd. Op blz 8 de meest relevante. Dat gaat over de communicatie over de transparantie van de DEC's. Voor de volledigheid heb ik ook de stukken bijgevoegd. Kun je instemmen met de wijzigingen in het besluit?

In de correspondentie over de DEC's wordt overigens verwezen naar en brief van de voormalig 5.1.2.e van na de zomer 2020, waarin de zorgen over o.a. onafhankelijkheid DEC's worden gedeeld.

5.1.2.e kon deze brief niet vinden. In de openbare kamerstukken vond ik een [brief van de voormalig 5.1.2.e](#) van nov 2020. Daarin is niet gesproken over dit onderwerp. Mijn conclusie is dat de brief van de minister over de DEC er niet is gekomen. Deel je dat?

Brief uitgestelde verstrekking

Met bijgevoegde brief wil ik de stukken aanbieden. Ga je akkoord met de inhoud?

Gesprek RTL

Mijn contactpersoon bij 5.1.2.h wil met hun Wob-deskundige een overleg plannen over het besluit. Voorgesteld wordt het overleg enkele dagen na het te verzenden besluit te plannen. Lijkt mij prima.

Afronden werkzaamheden

Na je akkoord zal ik zorgdragen voor verzending. Incl de uitgestelde verstrekking van de stukken. Het gesprek met 5.1.2.h neem ik met 5.1.2.e 5.1.2.e graag voor mijn rekening.

Voor de CCD is het praktisch /efficiënt als ik betrokken ben bij mogelijke reacties nav de aan de derde-belanghebbende verstrekte stukken. Een maandje langer toegang helpt dan enorm. Dat mijn contract loopt tot eind van deze maand is voor mij geen probleem. Zo nodig teken ik een extra geheimhoudingsverklaring.

Als je instemt met een maand langer toegang tot mijn mailbox/documenten, kun jij dat dan regelen?

From: "5.1.2.e" <5.1.2.e@rvo.nl>
Sent: Mon, 16 May 2022 14:13:17 +0200
To: "5.1.2.e" <5.1.2.e@rvo.nl>; "5.1.2.e" <5.1.2.e@rvo.nl>; "5.1.2.e" <5.1.2.e@rvo.nl>
Subject: RE: implementatie WOO
Attachments: Overzicht processen en bewaartermijnen (met opmerkingen 5.1.2.e en 5.1.2.e) 2.1.docx

5.1.2.e en 5.1.2.e

Ter informatie voor het overleg van morgen hierbij de selectielijst.

Groet,
5.1.2.e

-----Oorspronkelijke afspraak-----

Van: 5.1.2.e <5.1.2.e@rvo.nl>

Verzonden: dinsdag 3 mei 2022 09:37

Aan: 5.1.2.e; 5.1.2.e; 5.1.2.e

Onderwerp: implementatie WOO

Tijd: dinsdag 17 mei 2022 15:00-16:00 (UTC+01:00) Amsterdam, Berlijn, Bern, Rome, Stockholm, Wenen.

Locatie: Microsoft Teams-vergadering

Dag collega's,

Graag kijk ik met jullie naar de implementatie van de WOO voor de CCD. Zie hiervoor de bijlage, met name onderaan pagina 5: we moeten voor actieve openbaarmaking eerst weten welke interne processen we hebben en welke informatie we opslaan. Als het goed is, hebben we daar met de inventarisatie voor de archiefwet al een belangrijke stap in gezet.
[@ 5.1.2.e](#) (5.1.2.e): wil jij voor dit overleg opzoeken wat we al in beeld hebben?

Hartelijke groet, 5.1.2.e

Microsoft Teams-vergadering

Deelnemen op uw computer of via de mobiele app

[Klik hier om deel te nemen aan de vergadering](#)

Deelnemen met een apparaat voor videovergaderingen

5.1.2.h

5.1.2.h

[Alternatieve VTC-instructies](#)

Of deelnemen via telefoon (alleen audio)

5.1.2.e # Netherlands, Amsterdam

Id voor telefonische vergadering: 5.1.2.h

5.1.2.h

[Meer informatie](#) | [Opties voor vergadering](#)

From: "5.1.2.e"
Sent: Fri, 17 Jun 2022 14:18:52 +0200
To: "5.1.2.e" <5.1.2.e@rvo.nl>; "5.1.2.e" <5.1.2.e@rvo.nl>
Cc: "5.1.2.e" <5.1.2.e@rvo.nl>
Subject: vraag over Woo-verzoek (2022-096)
Attachments: 2022-096 5.1.2.h 5.1.2.h -woo.pdf, 2022-095 5.1.2.h woo.pdf

Hallo 5.1.2.e

Wij hebben een nieuw Woo-verzoek ontvangen. Onder de Wet open overheid moeten verzoeken nog sneller worden afgehandeld (4 weken + 2 weken), vandaar dat ik jullie beiden meteen mail.

Het Woo-verzoek ziet op 5.1.2.h Aangezien 5.1.2.h een aanzienlijk aantal projectaanvragen van 5.1.2.h van een advies voorziet, is 5.1.2.h ook belanghebbende bij dit Woo-verzoek. De Woo-verzoeker wil inzage in de volgende documenten.

- Een afschrift van de erkenning en eventuele wijzigingen van/in die erkenning van de dierexperimentencommissie 5.1.2.h alsmede alle correspondentie en andere documenten daarover.
- Een afschrift van de uitgebrachte adviezen door 5.1.2.h met de daarbij behorende NTS-en vanaf 1 januari 2018.
- *Een afschrift van alle terugkoppelingen van adviezen aan deze DEC vanaf 1 januari 2018.*

Mijn vraag aan jullie:

- Aan welke instellingen brengt 5.1.2.h (naast 5.1.2.h) advies uit? Wij moeten hen nl ook op de hoogte brengen van dit verzoek.
- Is het makkelijk om in 5.1.2.h een uitdraai te maken van alle DEC-adviezen van 5.1.2.h en de bijbehorende NTS'en en terugkoppelingen van adviezen aan deze DEC?

5.1.2.e (5.1.2.e) ik heb je meegenomen in deze mail, zodat je ook weet dat er een nieuw Woo-verzoek is binnen gekomen.

Alvast bedankt en hopelijk tot dinsdag!

roetjes 5.1.2.e

From: "5.1.2.e"
Sent: Mon, 5 Dec 2022 10:18:42 +0100
To: "5.1.2.e" <5.1.2.e@rvo.nl>
Subject: RE: Woo-verzoek

Ha 5.1.2.e
Goed dat je extra context vraagt.
Ik heb de e-mail besproken met de andere juristen en we kwamen om onderstaande redenen tot de conclusie dat de e-mail tot de Woo-documenten behoort. We hebben gekeken naar de peildatum van het verzoek en de inhoud van het verzoek.

Peildatum:

De dag dat de beschikking wordt genomen/verstuurd. Dit was 28 nov 2022.
Dit betekent dat de documenten die een dag hierna in dit dossier vervaardigd worden niet meer tot de Woo-stukken behoren.
De besproken e-mail is echter op 28 nov 2022 verzonden en moeten we meenemen.

Inhoud:

Er wordt gevraagd om afschriften van alle *publieke informatie* inzake de projectaanvragen van 5.1.2.h
Uit de Woo blijkt dat *publieke informatie het volgende betreft*: informatie neergelegd in **documenten** die **berusten** bij een orgaan, persoon of college als bedoeld in [artikel 2.2, eerste lid](#), of informatie die krachtens [artikel 2.3](#) door een bestuursorgaan kan worden gevorderd.

Hier valt ook de hieronder besproken e-mail onder. Dat de e-mail niets te maken heeft met de besluitvorming over het dossier, maakt in dit geval niet dat we het document niet hoeven te verstrekken. Daar verzoekt de Woo-verzoeker niet specifiek om. Omdat de e-mail bij ons berust en een **document** in de zin van Woo is, moeten we het verstrekken. In dit geval is de e-mail een door de CCD opgemaakt stuk dat naar zijn aard verband houdt met onze publieke taak.

Wij hebben ook met gemachtigde van verzoeker gebeld n.a.v. het Woo-verzoek. Hierbij heeft hij aangegeven dat hij correspondentie die niet inhoudelijk van aard is niet wil inzien, dit zijn bijvoorbeeld 1) ontvangstbevestigingen van bescheiden, maar ook 2) interne communicatie tussen de medewerkers van de CCD waarbij bijvoorbeeld wordt gevraagd om het dossier na te lezen. Communicatie die wel inhoudelijk van aard is wil hij wel zien. Daar valt ons inziens ook de e-mail onder.

Oplossing gevraagd

5.2.1

5.2.1

5.2.1

Het openbaar maken van informatie blijft eveneens achterwege voor zover het belang daarvan niet opweegt tegen de volgende belangen: het goed functioneren van de Staat, andere publiekrechtelijke lichamen of bestuursorganen.

5.2.1

Tot slot

Ik begrijp dat er twijfels zijn over de consequentie als dit stuk eruit gaat, daarom heb ik dit eerst met de rest van de juristen besproken. Aan de andere kant geven we wel het signaal af dat we alle kaarten op tafel leggen, we transparant zijn en niets te verbergen hebben door ook dit stuk te verstrekken.

Als je hierover wilt bellen, ben ik vandaag gewoon bereikbaar.

Groet! 5.1.2.e

Van: 5.1.2.e <5.1.2.e@rvo.nl>

Verzonden: vrijdag 2 december 2022 16:37

Aan: 5.1.2.e <5.1.2.e@rvo.nl>

Onderwerp: RE: Woo-verzoek

Ha 5.1.2.e

Goed dat je me dit laat weten. Kan je me iets verder toelichten op welke grond dit tot het Woo-verzoek gerekend wordt? Worden alle dossiers van 5.1.2.h en alle communicatie daarover gevraagd? Het heeft namelijk niets te maken met de besluitvorming over het dossier.

5.2.1

5.2.1

5.2.1

5.2.1

Graag je advies hoe hiermee om te gaan.

Groet! 5.1.2.e

Van: 5.1.2.e <5.1.2.e@rvo.nl>

Verzonden: donderdag 1 december 2022 15:51

Aan: 5.1.2.e <5.1.2.e@rvo.nl>

Onderwerp: Woo-verzoek

Ha 5.1.2.e

Ik heb het Woo-verzoek van 5.1.2.e overgenomen.

Ik wil je ervan op de hoogte stellen dat [deze](#) e-mail ook tot de Woo-stukken behoort.

Met vriendelijke groet,

Djina 5.1.2.e



5.1.2.e

5.1.2.e

t 5.1.2.e

Centrale Commissie Dierproeven

From: "5.1.2.e"
Sent: Thu, 6 Apr 2023 14:43:19 +0200
To: "5.1.2.e" <5.1.2.e@rvo.nl>; "5.1.2.e" <5.1.2.e@rvo.nl>
Subject: W23-01 besluit

Hoi 5.1.2.e (och wat een spam krijg jij toch van mij, sorry),

Ik heb het Woo-besluit W23-01 af, hij staat [hier](#). Zou jij deze dinsdag z.s.m willen checken? Dan kan het besluit nog 5.1.2.e's verlof naar hem ter accordering.

5.1.2.e 5.1.2.e) Vanmorgen heb ik dinsdag 18 april met jou afgestemd, maar het schrijven ging vandaag vlotter dan verwacht. Zou volgende week dinsdag 11 april ook nog lukken (als 5.1.2.e tijd heeft gehad)? Dat scheelt weer een week, en misschien scheelt het ook wel in het geduld van 5.1.2.h

Kleine leeswijzer: 5.1.2.h vraagt alle NTS'en, BA's en terugkoppelingen daarop van 5.1.2.h Er zijn geen BA's, dus blijven enkel de NTS'en over. 5.1.2.h wordt met naam genoemd, dus 5.1.2.h beroept zich op artikel 43 van de Dierproevenrichtlijn + uitspraken van de afdeling van 28 december 2022. Wij honoreren dit beroep en weigeren alles. Ik heb ervoor gekozen om niets te zeggen over de *als-dan-situatie* dat er wel BA's zouden zijn. De rechter (mocht het zo ver komen) gaat zich hier ook niet over uitlaten en ik wilde dit besluit zo kort mogelijk houden gezien de recente "Woo-geschiedenis" van 5.1.2.h bij ons. Ook heb ik niet benoemd dat 5.1.2.h bijna alle informatie die ze opvragen al heeft middels W22-03. Dat zou weer een extra verwijzing/link zijn tussen de documenten en 5.1.2.h Wel is het verstandig dat – als dit bij de rechter komt – deze info met de rechter te delen, omdat het dan wel relevantie kan hebben voor de "waardering" van het Woo-verzoek door de rechter.

Ik hoop dat dit zo duidelijk is. Het fijne aan dit besluit is overigens dat jullie allebei bijna alle tekst die in dit besluit staat al eens hebben gezien 😊

5.1.2.e

From: "5.1.2.e"
Sent: Mon, 26 Jun 2023 11:24:57 +0200
To: "5.1.2.e" <5.1.2.e@rvo.nl>; "5.1.2.e" <5.1.2.e@rvo.nl>
Subject: RE: update zaak 5.1.2.h

Hoi 5.1.2.e

Klopt, ik denk dat het woordje NIET is weggefallen.

Dus kort samengevat kan worden volstaan met:

1. De dossiers waarin de CCD een minderheidsstandpunt heeft ingenomen;
2. De 30 meest recente dossiers waarin de DEC een minderheidsstandpunt heeft ingenomen.

Dit betekent dat het Woo-verzoek is beperkt tot deze dossiers, de overige dossiers waarin de DEC een minderheidsstandpunt heeft ingenomen, kunnen wij buiten beschouwing laten.

De hoogste prioriteit zijn de dossiers met de minderheidsstandpunten van de CCD.

Groet,

5.1.2.e

Van: 5.1.2.e <5.1.2.e@rvo.nl>
Verzonden: maandag 26 juni 2023 11:18
Aan: 5.1.2.e <5.1.2.e@rvo.nl>; 5.1.2.e <5.1.2.e@rvo.nl>
Onderwerp: RE: update zaak 5.1.2.h

Ha 5.1.2.e en 5.1.2.e

Bedankt voor deze heldere toelichting. Ik zal het vast aan de CCD-leden sturen, dan zijn ze gelijk op de hoogte.

Klopt het dat er een essentieel woordje NIET weg was gevallen bij het tweede gedachtenstreepje? Dat heb ik er nu in gezet.

Groet! 5.1.2.e

Van: 5.1.2.e <5.1.2.e@rvo.nl>
Verzonden: maandag 26 juni 2023 11:06
Aan: 5.1.2.e <5.1.2.e@rvo.nl>
CC: 5.1.2.e <5.1.2.e@rvo.nl>
Onderwerp: update zaak 5.1.2.h

Hi 5.1.2.e

Je vroeg om een kleine update omtrent de aanpassing van het Woo-verzoek van 5.1.2.h

Het ingediende verzoek luidde: *We verzoeken u ons een kopie te verstrekken van de volledige vergunningsaanvraag inclusief de bijlagen over de dierproeven, het advies van de Dierexperimentencommissie (DEC), de beslissing van de Centrale Commissie Dierproeven (CCD) en alle communicatie tussen de aanvrager en de DEC en de CCD, voor alle aanvragen waarvoor hetzij het vergunningsadvies van de DEC, hetzij de beslissing van de CCD niet unaniem tot stand is gekomen. We verzoeken u ons de gevraagde informatie te verstrekken voor alle vergunningsaanvragen waarop dit van toepassing is sinds de CCD met haar werkzaamheden is begonnen tot nu.*

Op 6 juni 2023 heeft een prioriteringsgesprek plaatsgevonden. Verzoeker had niet verwacht dat het verzoek zo omvangrijk zou zijn, omdat 5.1.2.e dacht dat de CCD niet vaak een minderheidsstandpunt inneemt. Wij gaven aan dat dat inderdaad zo is, maar bij de DEC's is er vaker sprake van een advies wat niet unaniem is. Als prioritering wordt nu gehanteerd:

- Alle dossiers waarin de CCD een minderheidsstandpunt heeft ingenomen/waarin de CCD niet unaniem was; en
- De 30 meest recente DEC-adviezen die **NIET** op basis van unanimiteit zijn uitgebracht, waarbij de kleinste meerderheid voor haar extra prio hebben. Dit betekent dat het Woo-verzoek is beperkt tot deze dossiers; de overige dossiers waarin de DEC een minderheidsstandpunt heeft ingenomen, kunnen wij buiten beschouwing laten.

Verzoeker zegt dat het 5.1.2.e voornamelijk gaat om de communicatie die ziet op de inhoudelijke discussie, met name over het minderheidsstandpunt.

Verder hebben we aangegeven waarschijnlijk pas begin september het eerste deelbesluit te kunnen versturen vanwege de omvang van de dossiers, de hoeveelheid derde-belanghebbenden, maar ook vanwege IT-technische uitdagingen in verband met het selecteren en inventariseren van de juiste dossiers ten behoeve van het verzoek.

5.1.2.e
5.1.2.e

Heb je zo voldoende info?

PS: ik heb 5.1.2.e meegenomen in de mailing, aangezien zij de regie heeft over het dossier.

Met vriendelijke groet,

5.1.2.e 5.1.2.e

5.1.2.e Centrale Commissie Dierproeven

.....
Centrale Commissie Dierproeven
Juridische Zaken
Prinses Beatrixlaan 2 | 2595 AL | Den Haag
Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag
.....