



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.zbo-ccd.nl of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in 24300 ☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de Instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Curax BV.
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[Redacted]
		KvK-nummer	30183378
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	Mijndensedijk 41a
		Postbus	
		Postcode en plaats	3631NN Nieuwersluis
		IBAN	NLOFTSB0844302087
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Curax BV.
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted] ☒ Dhr. Mw.
		Functie	[Redacted]
		Afdeling	[Redacted]
		Telefoonnummer	[Redacted]
		E-mailadres	[Redacted]
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted] Dhr. Mw.
		Functie	[Redacted]
		Afdeling	[Redacted]
		Telefoonnummer	[Redacted]
		E-mailadres	[Redacted]

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

2 Over uw aanvraag

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

3 Over uw project

3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?	Startdatum	01 . 03 . 2015
	Einddatum	01 . 03 . 2018
3.2 Wat is de titel van het project?	Nieuwe en verbeterde medicatie mogelijkheden voor COPD.	
3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?	Nieuwe en verbeterde medicatie mogelijkheden voor COPD.	
3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?	Naam DEC	De dierexperimentencommissie Utrecht
	Postadres	Bureau van de DEC Utrecht
	E-mailadres	dec-utrecht@umcutrecht.nl

4 Betaalgegevens

4.1	Om welk type aanvraag gaat het?	☒ Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 741 ☐ Wijziging €	Lege
4.2	Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen. <i>Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.</i>	☐ Via een eenmalige incasso ☒ Na ontvangst van de factuur	

5 Checklist bijlagen

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

6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:
- Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
- Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.6). De ondergetekende verklaart:
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
 - dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
 - dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
 - dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
 - dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam	[Redacted]
Functie	[Redacted]
Plaats	Utrecht
Datum	11 - 03 - 2015
Handtekening	[Redacted]



Centrale Commissie Dierproeven

2

Format Projectvoorstel dierproeven

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

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 24300
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Curax BV.
- 1.3 Vul de titel van het project in. Nieuwe en verbeterde medicatie mogelijkheden voor COPD.

2 Categorie van het project

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

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

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

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

COPD (chronic obstructive pulmonary disease) is een chronische longziekte die wordt gekarakteriseerd door een abnormaal ontstekingsproces. Dit abnormale ontstekingsproces in de longen zorgt voor een progressieve toename van luchtweg obstructie. Hierdoor hebben patiënten een verminderde longfunctie. Ontstekingscellen (waaronder neutrofiële granulocyten) en het immuunsysteem spelen een belangrijke rol bij deze ziekte. Aanhoudende ontstekingen kunnen leiden tot blijvende schade aan het bindweefsel van de longblaasjes (longemfyseem). Deze blijvende schade leidt tot zuurstof tekort in alle organen (1). Uiteindelijk kunnen deze patiënten niet meer normaal functioneren omdat ze in een rolstoel met zuurstof support zitten voor de rest van hun leven. Door dit alles wordt de kwaliteit van leven aanzienlijk aangetast en is de levensverwachting aanzienlijk verkort.

Sigarettenrook is de bekendste risicofactor van COPD, maar ook luchtverontreiniging (2) en werkgerelateerde blootstelling aan biologische componenten (3) zijn gecorreleerd aan het ontstaan van COPD. Een groot punt van zorg is de COPD ontwikkeling in de lage en midden inkomen landen. Daar lopen met name vrouwen en kinderen het risico om COPD krijgen door het koken op biomassa in slecht geventileerde ruimtes. Een derde van de COPD patiënten woont in deze landen (4).

Momenteel bestaan er feitelijk geen adequate therapieën om het ontstekingsproces bij COPD goed te behandelen. Glucocorticosteroiden (GCS, zoals Dexamethasone) worden tot nu toe als behandelingstherapie toegepast in longziekten, zoals astma en COPD, vanwege hun sterke vermogen om via de Glucocorticoid Receptor (GR) signalen te blokkeren en zodoende de luchtwegontstekingen te remmen (afname ontstekingscellen en mediators). Deze behandeling kent echter twee grote nadelen. Op lange termijn treden veel bijwerkingen op. Bijvoorbeeld, 12,5 % vermindering in botdichtheid treedt op in de eerste paar maanden na inname van GCS waarna een jaarlijkse afname van 2-5% optreedt. 60% van de mensen krijgt last van een verminderde spierontwikkeling, 60% klaagt over depressie en 23 % van de vrouwen ontwikkelt diabetes (5). Daarnaast is opvallend dat er vaak (90% van de gevallen) een ongevoeligheid optreedt voor de behandeling met GCS. De beschikbare medicatie blijkt dus niet geschikt (6). Aangezien GCS, ondanks de vervelende bijwerkingen, wel zeer effectief is in astma, is er veel aandacht voor het doorbreken van de GCS ongevoeligheid in COPD. Tot nu toe is er één medicijn beschikbaar die deze ongevoeligheid doorbreekt, theophylline. To et al (7) heeft reeds in een vergelijkbaar muizenmodel voor COPD (zoals wij ook in deze aanvraag willen gebruiken) aangetoond dat theophylline de glucocorticosteroid ongevoeligheid te niet kan doen. Theophylline is een fosfodiesterase remmer, maar de werking op het GCS systeem werkt via PI3Kinase. Het blijkt dus dat aangrijpen op het PI3Kinase systeem veel belovend kan zijn om de ongevoeligheid voor GCS te doorbreken en mogelijk zelf (als mono therapie) de luchtwegontsteking kan verminderen. Maar theophylline is helaas een oud en onspecifiek medicijn, met bijwerkingen, ook wel een "Dirty Drug" genoemd. Specifieke PI3K remmers lijken meer potentie te hebben. In diervormen met reumatoïde artritis zijn PI3K-remmers effectief. De specifieke PI3K-remmers zijn nu in fase II van ontwikkeling voor reumatoïde artritis patiënten.

(http://markets.on.nytimes.com/research/stocks/news/press_release.asp?docTag=201501080650BIZWIRE_USPRX____BW5064&feedID=600&press_symbol=92074). Om ook toepassing voor COPD patiënten te realiseren is onderzoek nodig naar de potentie van deze specifieke PI3K-remmers in een COPD diervorm. Door het bedrijf Infinity zijn moleculaire aanpassingen gedaan en varianten zijn geselecteerd op basis van in vitro onderzoek en zullen vergeleken worden met hun lead compound op basis van het reuma onderzoek. De nieuwe moleculen zijn erg potent en erg isoform selectieve PI3K delta, PI3K gamma en PI3K delta/gamma remmers. Deze moleculen zijn nog niet goed gekeurd voor het gebruik bij mensen met luchtwegaandoeningen. Het testen van deze

moleculen dierct bij mensen zou niet goed gekeurd worden door de Medische Etische Commissie.

In dit onderzoek zullen voor het eerst deze specifieke PI3K remmers worden gegeven aan muizen met een luchtwegontsteking door sigarettenrook: in mono therapie en in combinatie therapie met GCS, om aan te tonen dat de ongevoeligheid van GCS kan worden doorbroken (8). We verwachten dat naast het doorbreken van de ongevoeligheid van GCS de specifieke PI3K-remmers zelf ook een positief effect zullen hebben op het remmen van het ontstekingsproces. Dit werkt via het eerder genoemde PI3K systeem. Als deze hypothese klopt, dan is het mogelijk dat we een medicijn kunnen ontwikkelen dat het verloop van COPD kan remmen of stopzetten.

We gebruiken een COPD muizen model dat binnen de afdeling al veel gebruikt is en gebaseerd is op To et al (7). In dit model worden muizen blootgesteld aan rook om een situatie in de muizen te creëren die zeer vergelijkbaar is aan COPD. De muizen zijn na herhaalde blootstelling aan rook allemaal ongevoelig voor GCS. 90% van de patiënten met COPD reageert niet op GCS behandeling. Die overige 10% van de patiënten hebben meer eosinofielen in hun longen, wat wijst op gelijktijdige astma in de patiënt, waarbij GCS wel goed werken (5). Er is geen ander model beschikbaar waarin glucocorticosteroid resistentie aangetoond kan worden in proefdieren. De resistentie ontstaat in COPD patiënten door roken. Misschien ontstaat de resistentie ook wel door andere oorzaken (Reuma/IBD) maar zo ver wij weten zijn daar geen diermodellen voor beschreven met resistentie voor GCS. Wij verwachten dat bovenstaand muizenmodel een goede voorspellende waarde heeft voor het uittesten van de specifieke PI3K-remmers. Curax BV voert de experimenten uit binnen de afdeling Farmacologie, UIPS, UU. De afdeling Farmacologie heeft reeds vele jaren ervaring met immunologische en fysiologische parameters in muizen die representatief zijn voor COPD in de mens (zoals luchtwegfunctie en aantallen longcellen, typen ontstekingscellen, ontstekingsmediatoren) (9,10).

- (1) O'Donnell et al, Chronic obstructive pulmonary disease: clinical integrative physiology. Clin Chest Med. 2014, 35:51-69.
- (2) Ko et al, Air pollution and chronic obstructive pulmonary disease. 2012, 17:395-401.
- (3) Metheson et al, Biological dust exposure in the workplace is a risk factor for chronic obstructive pulmonary disease. 2005, 60:645-651.
- (4) Gordon et al, Respiratory risks from household air pollution in low and middle income countries. Lancet Respir Med. 2014, 10:823-60.
- (5) Schäcke et al, Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. Pharmacol. & Ther. 2002, 96:23-46.
- (6) Barnes PJ & Adcock I, Glucocorticoid resistance in respiratory disease. Lancet. 2009, 373:1905-17.
- (7) To et al, Targeting phosphoinositide-3-kinase-delta with theophylline reverses corticosteroid insensitivity in chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med. 2010; 182:897-904.
- (8) Kao, T.-C., Shyu, M.-H. & Yen, G.-C. Glycyrrhizic acid and 18beta-glycyrrhetic acid inhibit inflammation via PI3K/Akt/GSK3beta signaling and glucocorticoid receptor activation. J. Agric. Food Chem. 2010, 58:8623-8629.
- (9) Barnes, Cellular and molecular mechanisms of chronic obstructive pulmonary disease, Clin Chest Med. 2014, 35:71-86.
- (10) Braber et al, An association between neutrophils and immunoglobulin free light chains in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med. 2012, 185:817-24.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

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

De meerderheid van de COPD patiënten ontwikkelt of heeft reeds een ongevoeligheid voor GCS. De doelstelling van dit project is om een medicatie te vinden voor COPD. Wij willen de GCS ongevoeligheid door middel van zo geheten PI3K-remmers te niet doen. Er zijn specifieke PI3K-remmers ontwikkeld en deze willen wij uittesten in een model voor glucocorticosteroid ongevoeligheid. Deze specifieke PI3K-remmers zijn reeds uitgetest in in vitro-, preklinische- en fase I- studies met veelbelovende resultaten (<https://www2.rheumatology.org/apps/MyAnnualMeeting/ExploreMeeting/AbstractDetail?abstractId=28433>). Dit

project is een essentiële stap om de hiervoor beschreven strategie tegen COPD naar de kliniek te brengen. Mochten er een of meerdere PI3-K remmers daadwerkelijk potentie hebben dan zullen deze in samenwerking met academische ziekenhuizen en partners in de farmaceutische industrie (Infinity Pharmaceuticals) een stap dichterbij de kliniek worden gebracht. Het model loopt al een paar jaar binnen de afdeling Farmacologie. Op basis van de ervaring (10,11) en literatuur gegevens (7,8) denken wij dat de haalbaarheid van dit project groot is. Er bestaat geen enkel medicijn dat het verloop van COPD kan stopzetten. Indien specifieke PI3K-remmers de GCS ongevoeligheid kunnen opheffen, dan voorziet dit medicijn in een grote behoefte voor COPD patiënten en is er een medicijn ontwikkeld dat het verloop van COPD zal kunnen remmen of stopzetten.

Onderzoeksvraag 1:

Kunnen specifieke PI3K-remmers de GCS ongevoeligheid in muizen doorbreken?

Onderzoeksvraag 2:

Kunnen specifieke PI3K-remmers in mono therapie de symptomen van COPD onderdrukken?

(11) Verheijden et al, Measurement of airway function using invasive and non-invasive methods in mild and severe models for allergic airway inflammation in mice. Front Pharmacol. 2014, 5:190-196.

3.3 Belang

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

De World Health Organization heeft berekend dat COPD in 2020 de 3e doodsoorzaak wereldwijd zal zijn (11). Er wordt steeds meer aandacht besteed aan preventie, maar dit zal niet leiden tot een complete verdwijning van het probleem (11). Want

- A. net zoals andere verslavingsziekten zoals bijvoorbeeld overgewicht, is het vaak moeilijk voor mensen om te stoppen met hun slechte gewoontes.
- B. in het Westen neemt het aantal rokers af, echter niet onder de lager opgeleiden. In het Oosten neemt het aantal rokers toe door de verbeterde economische omstandigheden.
- C. in lage en midden inkomen landen komt COPD veel voor onder vrouwen en kinderen door het koken en verwarmen op biomassa.

In dit onderzoek worden nieuwe medicijnen (7,8) getest die deze ongevoeligheid voor GCS doorbreken en mogelijk zelf (als mono therapie) de luchtwegontsteking kunnen verminderen. Dit kan leiden tot nieuwe en verbeterde medicatie opties voor COPD patiënten. Daarnaast kan de doelgroep, die voorheen ongevoelig was voor de standaard GCS therapie, nu mogelijk ook worden geholpen.

Symptomen van COPD zijn:

- benauwdheid
- hoesten
- slijm ophoesten
- kortademigheid
- vermoeidheid
- weinig spierkracht
- gewichtsverandering

Door deze symptomen en alle bijwerkingen van hoge concentraties GCS, is de levenskwaliteit van deze mensen slecht.

De uitval op het werk is hoog door de uiteindelijke invaliditeit. Bovendien zijn de economische kosten erg hoog om deze progressieve longziekte te verlichten

en deze zullen alleen maar hoger worden doordat COPD steeds vaker voorkomt. Daarbij worden er aan de resistente patiënten hoge concentraties GCS gegeven. Voorschrijven van deze grote hoeveelheden GCS (en het behandelen van de bijeffecten) zijn ook erg duur. Er is wereldwijd enorme belangstelling om potente anti-inflammatoire behandelingen te vinden tegen de levensbedreigende ziekten als COPD. Deze studie zal bijdragen aan inzichten in en het vinden van nieuwe anti-inflammatoire behandelingen tegen COPD maar ook bij andere ziekten waar glucocorticosteroid ongevoeligheid aanwezig is (zoals darmontstekingen en reuma). Gezien de bijwerkingen van GCS (osteoporose, huidverdunding en onderhuidse bloedingen, huidstriae, spieratrofie (dit is nadelig bij COPD), cataract, slechte wondheling, hoge bloeddruk, diabetes, bijnierschors insufficiëntie) en de prevalentie van ongevoeligheid voor GCS, is er vraag naar nieuwe strategieën om de chronische luchtweg (en andere) ontstekingen tegen te gaan. Deze experimenten zouden kunnen leiden tot een effectieve therapie voor COPD patiënten en andere patiënten die leiden aan GCS resistentie. Hierdoor zou deze groep patiënten weer kunnen bijdragen aan het arbeidsproces en wellicht minder ziekenhuisbezoeken en opnames nodig hebben.

(11) World Health Organization. WHO Statistical Information System (WHOSIS). Available from: <http://www.who.int/whosis/whostat/2008/en/index.html>. Published 2008 Jan 1.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Gezien de potentie van specifieke PI3K-remmers om de GCS ongevoeligheid te doorbreken (7,8), zullen we kiezen voor 3 specifieke PI3K-remmers (. De remmers zijn gebaseerd op uitgebreid vooronderzoek (<https://www2.rheumatology.org/apps/MyAnnualMeeting/ExploreMeeting/AbstractDetail?abstractId=28433>) en vormen een stevige basis om geselecteerd te worden voor een screening in het rookmodel. In dit model kan de ongevoeligheid voor GCS nagebootst worden door middel van rook blootstelling. Om te bepalen of de specifieke PI3K-remmers de GCS ongevoeligheid doorbreken en mogelijk zelf een anti-inflammatoire werking hebben (12,13), zal er een luchtwegontsteking worden geïnduceerd, die ongevoelig is voor GCS. De muizen zullen daarom aan sigarettenrook worden blootgesteld voor meerdere dagen volgens een gestandaardiseerd model. Dit "therapeutische model" model heeft onze voorkeur boven het preventieve model, omdat in een preventief model GCS wel werken, en omdat een preventief model niet de werkelijkheid weergeeft omdat men eerst ziek wordt en dan GCS krijgt toegediend. In het therapeutische model krijgen de muizen gedurende de laatste dagen, wanneer er al sprake is van een luchtwegontsteking en GCS ongevoeligheid, de specifieke PI3K-remmers, in combinatie met of zonder een GCS. Zoals hiervoor is aangegeven is deze strategie van klinisch belang, aangezien de COPD patiënten beginnen met GCS medicatie wanneer de symptomen zich voordoen. Daarnaast blijven de meeste COPD patiënten, ondanks de slechte prognose, roken tijdens de medicatie en dit is ook opgenomen in de opzet. Uiteindelijk zal er worden gekeken naar verschillen in symptomen tussen muizen die de volgende behandeling hebben gehad:

- geen behandeling,
- GCS behandeling,
- 3 verschillende PI3K-remmer behandeling en een
- combi (GCS+ 3 verschillende PI3K-remmer).

Te verwachten is dat de muizen zonder behandeling en de muizen met een GCS behandeling symptomen zullen vertonen van COPD ten gevolgen van het roken. In de groep met de combinatie behandeling, GCS + PI3K remmer, verwachten wij remming op de luchtwegontsteking terwijl dat niet of nauwelijks geremd wordt met de individuele behandelingen van de specifieke PI3K remmers of GCS. We verwachten dat de individuele behandeling met PI3K-remmers in sommige gevallen meetbare positieve effecten zal hebben op symptomen of luchtwegontstekingen in vergelijking met de niet behandelde groep muizen.

12) Deal watch: Infinity and Intellikine to develop oral PI3K inhibitors for inflammatory diseases. Nat Rev Drug Discov. 2010; (9):670.

13) Ferrandi et al. Phosphoinositide 3-kinase gamma inhibition plays a crucial role in early steps of inflammation by blocking neutrophil recruitment. J Pharmacol Exp Ther. 2007; 322(3):923-30.

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

Op basis van de ervaring in ons laboratorium, de expertise die wij in huis hebben in het luchtwegontstekingsveld (10,11) en de acceptatie van dit model in de wetenschappelijke wereld kiezen wij voor het muizen rookmodel (7). Muizen worden in dit model 2 maal per dag met minimaal 5 uur rust blootgesteld aan lucht of sigaretten rook (max. 20-25 min) voor 10 opeenvolgende dagen. Na 5 dagen blootgesteld te zijn aan sigarettenrook is de GCS ongevoeligheid ontwikkeld. Vanaf dag 6 tot dag 10 wordt de mono of combi medicatie gegeven. Op dag 11 worden de dieren gedood en wordt de mate van luchtwegontsteking gekwantificeerd.

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

De keuze van de specifieke PI3K-remmers is gebaseerd op uitgebreid vooronderzoek

(<https://www2.rheumatology.org/apps/MyAnnualMeeting/ExploreMeeting/AbstractDetail?abstractId=28433>). Uit dit vooronderzoek zijn drie potente PI3K-remmers geselecteerd uit een veel grotere pool van stoffen. Het aantal groepen wordt zoveel mogelijk beperkt maar het testen van meerdere actieve componenten heeft als voordeel dat er dan met 1 controle groep gewerkt kan worden. De meest potente remmer zal in vervolg onderzoek gebruikt gaan worden. Bijvoorbeeld verschillende doseringen van 1 PI3K-remmer en/of langere blootstelling aan sigarettenrook (ontwikkeling long emfyseem). Op basis van succes zal een klinische fase volgen.

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.	
Volgnummer	Type dierproef
1	Rookmodel
2	
3	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Bijlage

Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	24300				
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Curax BV				
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr><tr><td>1</td><td>Rookmodel</td></tr></table>	Volgnummer	Type dierproef	1	Rookmodel
Volgnummer	Type dierproef					
1	Rookmodel					

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

De keuze van de specifieke PI3K-remmers is gebaseerd op bevindingen die gedaan zijn door Infinity Pharmaceuticals voor de ontwikkeling van een medicijn tegen rheuma (<https://www2.rheumatology.org/apps/MyAnnualMeeting/ExploreMeeting/AbstractDetail?abstractId=28433>). Om nu inzicht te krijgen in de effecten van de behandeling met PI3K-remmers in een compleet immuunsysteem en een ontstekingen in de luchtwegen, wordt er gebruik gemaakt van het in vivo rookmodel.

Primaire uitkomstparameters zijn het aantal en type ontstekingscellen in de broncho-alveolaire lavage (BAL) vloeistof. Deze BAL vloeistof wordt verkregen door de muis intraperitoneaal een overdosis euthasaat toe te dienen. Nadat de dood is ingetreden wordt er bloed afgenomen en een slangetje in de luchtpijp

gebracht en wordt er vloeistof ingespoten en terug gezogen. Het aantal en type ontstekingscellen wordt gemeten in de verkregen vloeistof. Deze cellen zijn indicatief voor de effectiviteit van de behandeling

Secundaire parameters zijn ontstekingsparameters (cytokines) in bloed en de BAL vloeistof, histologische karakterisering van het longweefsel en de luchtwegfunctie. De luchtwegfunctie wordt voorafgaand aan de euthanasie gemeten. Dit is een non-invasieve methode waarbij de dieren individueel voor 2 minuten worden gehuisvest in een perspexkamer van 30 cm in diameter en 20 cm hoog. Deze secundaire parameters zijn belangrijk om de effectiviteit te kunnen onderbouwen.

Het korte rookmodel (10 dagen) in muizen is inmiddels goed gestandaardiseerd waardoor wij in de huidige studie het effect van de specifieke PI3K remmers betrouwbaar kunnen bestuderen (1). Tevens is er heel veel ervaring opgedaan en kennis vergaard omtrent het meten van de luchtwegfunctie (2). Hierdoor kunnen we nu met een n van 10 muizen per groep duidelijke verschillen tussen de groepen meten. We zullen groepen vergelijken die niet behandeld zijn met een medicatie, dan wel behandeld zijn met specifieke PI3K-remmers, een GCS, of een combinatie therapie van GCS en specifieke PI3K-remmers. Uitsluitend noodzakelijke controle groepen worden meegenomen.

Met deze experimentele aanpak en uitleesparameters verwachten wij de onderzoeksvragen na te kunnen beantwoorden.

(1) Braber et al, An association between neutrophils and immunoglobulin free light chains in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med. 2012, 185:817-24.

(2) Verheijden et al, Measurement of airway function using invasive and non-invasive methods in mild and severe models for allergic airway inflammation in mice. Front Pharmacol. 2014, 5:190-196

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.

Muizen worden blootgesteld aan lucht of sigarettenrook voor maximaal 20-25 min, 2 maal per dag met 5 uur rust, voor 10 opeenvolgende dagen. De sigaretten zijn standaard onderzoeks-sigaretten (Kentucky) die door onze groep en andere onderzoeksgroepen al jaren wordt gebruikt (<http://www2.ca.uky.edu/refcig/>). Na 5 dagen blootgesteld te zijn aan sigarettenrook is de GCS ongevoeligheid ontwikkeld. Vanaf dag 6 tot en met dag 10 wordt de mono of combi medicatie gegeven. De PI3K remmers zullen oraal toegediend worden en de GCS intraperitoneaal. Op dag 11 worden de dieren gedood en wordt de mate van luchtwegontsteking gekwantificeerd. Alle muizen zullen voorafgaand aan de euthanasie individueel voor 2 minuten worden gehuisvest in een perspexkamer van 30 cm in diameter en 20 cm hoog om de longfunctie te meten.

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

Het korte rookmodel (10 dagen) in muizen is inmiddels goed gestandaardiseerd waardoor wij in de huidige studie het effect de PI3K remmers betrouwbaar kunnen bestuderen (1). Tevens is er heel veel ervaring opgedaan en kennis vergaard omtrent het meten van de luchtwegfunctie (2). Op basis van deze ervaring, verwachten we dat wij aan 10 dieren per groep genoeg te hebben, maar dit kan nog veranderen als wij op basis van de eerste set experimenten een extreem andere variatie krijgen. We zullen de aantallen altijd baseren op een poweranalyse. De analyse van de resultaten is een anova analyse waarbij wij posthoc, gericht kijken naar de vergelijking GSC+PI3K-remmer vs GSC vs PI3K-remmer vs controle.

- geen behandeling (lucht vs rook = 2 groepen),
- GCS behandeling (rook = 1 groepen)
- 3 verschillende PI3K-remmer behandeling (rook = 3 groepen)

- combi GCS + 3 verschillende PI3K-remmer (rook = 3 groepen)
Bij 10 dieren per groep en minimaal 9 groepen per experiment hebben wij 90 dieren per experiment nodig.

Indien er een positief effect (significante remming van 30% of meer) gevonden wordt met meerdere PI3K-remmers als mono of combi therapie, dan zal er vervolg onderzoek plaatsvinden. De meest potente PI3K-remmer (op basis van celaantal en longfunctie) zal geselecteerd worden. Vervolgens zullen er 4 verschillende doseringen van de meest succesvolle PI3K-remmer uitgetest gaan worden als mono en combi therapie.

- geen behandeling (lucht vs rook = 2 groepen),
- GCS behandeling (rook = 1 groep)
- 4 verschillende PI3K-remmer behandeling (rook = 4 groepen)
- combi GCS + 4 verschillende PI3K-remmer (rook = 4 groepen)

Bij 10 dieren per groep en minimaal 11 groepen per experiment hebben wij 110 dieren per experiment nodig.

B. De dieren

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

Balb/c muizen, geregistreerde fok, 200 over 4 jaar, alle muizen zijn volwassen bij aankomst (10-12 weken).

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

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

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

☒ Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Helaas is vervanging niet mogelijk. Het effect van de medicatie kan niet anders onderzocht worden dan in het intacte proefdier omdat voor de werking van GCS en de ongevoeligheid hiervoor de interactie tussen longen, rook en het immuunsysteem nodig is. Binnen de afdeling is ruim 20 jaar ervaring met de beschreven experimenten waardoor er tijdens het experiment geen dieren dood gaan. Hierdoor hoeven we dus ook geen reserve dieren aan te vragen voor de experimenten. De rookblootstelling wordt zeer nauwgezet geregeld. De CO en O2 concentraties worden continue gemonitord en aangepast indien nodig (CO dose = 150-300 ppm en O2 concentratie = 20 %). De blootstelling aan de sigarettenrook (20-25 min) vindt per dag oplopend plaats (dag 1, 4 tot 6

sigaretten, dag 2, 8-10 sigaretten, dag 3, 12-14 sigaretten, vanaf dag 4, 14 sigaretten). Dit is gedaan om de muizen te laten wennen aan de rook en om stress en uitval te voorkomen. We gebruiken de laatste paar jaren een door ons gestandaardiseerde rookopstelling, waarbij de dieren evenwichtig over de ruimte verdeeld worden en de sigarettenrook ook. Hierdoor kunnen wij bij elk experiment eenzelfde sigarettenrook blootstelling creëren.

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

De blootstellingen aan rook zijn zo kort mogelijk gehouden om ongerief te voorkomen (zoals gewichtsverlies, verandering in ademhalingsfrequentie, suf worden). De CO wordt nauwkeurig binnen de perken gehouden (150-300 ppm) en het O₂ gehalte wordt gehandhaafd op 20%. Het lichaamsgewicht wordt elke dag gemeten en mag niet meer dan 15% dalen in 2 dagen.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

nvt

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?
☒ Nee > Ga verder met vraag I.
☐ Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?
☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.
☐ Ja
I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen
Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?
Er kan eventuele kortademigheid optreden gedurende het model, net zoals bij COPD patienten.
Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.
Dit komt door het blootstellen aan sigarettenrook, dit veroorzaakt een luchtwegontsteking waardoor de ademfrequentie kan toenemen.
Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.
De blootstellingen aan rook zijn zo kort mogelijk gehouden om ongerief te voorkomen. De CO wordt nauwkeurig binnen de perken gehouden (150-300 ppm) en het O2 gehalte wordt gemonitord op 20%. Het lichaamsgewicht wordt dagelijks gemeten.
J. Humane eindpunten
Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?
☐ Nee > Ga verder met vraag K.
☒ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.
Gewichtsverlies. Wij nemen dieren uit het experiment wanneer het gewichtsverlies groter is dan 15% binnen een periode van 2 dagen.
Ademhalingsfrequentie, obstructie van de luchtwegen en cyanose wordt in de gaten gehouden maar daar zijn in het verleden nooit problemen mee ontstaan.
Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?
<2%, op basis van de afgelopen 20 jaar werken met dit rookmodel, weten we dat er incidenteel een dier kan uitvallen door niet proef gerelateerde zaken, dat is het risico van het werken met levende dieren.
K. Classificatie van ongerief
Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.
Licht

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

☐ Nee > Ga verder met de ondertekening.

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

Orgaan isolatie en post mortem onderzoek. Daarmee kunnen wij essentiële metingen doen, namelijk de ontstekingscellen in de longen (BAL), en naar ontstekings-eiwitten in het bloed kijken.

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

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

☒ Ja



Centrale Commissie Dierproeven

4

Format

Niet-technische samenvatting

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

1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Nieuwe en verbeterde medicatie mogelijkheden voor COPD.
1.2 Looptijd van het project	4 jaar
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	COPD, glucocorticosteroiden, longen.

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project. <i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i>	☒ 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 Projectbeschrijving

3.1	Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	De longen zorgen er voor dat er zuurstof in het lichaam terecht kan komen, om zo alle organen te voorzien van zuurstof. Als de longblaasjes stuk zijn, wordt er minder zuurstof opgenomen in de longen en krijgen de organen minder zuurstof. In dit project wordt onderzoek gedaan met proefdieren naar nieuwe medicatie om patiënten, met de luchtwegaandoeningen COPD, een ziekte waarbij de longblaasjes kapot gaan, te behandelen. De huidige behandeling van deze patiënten is ontoereikend, waardoor ze uiteindelijk invalide worden, in een rolstoel terecht komen en afhankelijk worden van extra zuurstof toediening. Vaak sterven deze patiënten een vroegtijdige dood. Er zijn veel oorzaken waardoor de longblaasjes stuk gaan. Dit kan zijn door een fout in de genen, door roken of door luchtvervuiling. Een andere belangrijke oorzaak doet zich voor in economisch zwakkere landen (3de wereld) waar mensen eten koken en hun huis verwarmen door het verbranden van dierlijke ontlasting en hout, in slecht geventileerde ruimtes. Ontstekingen van de longen worden doorgaans behandeld met de ontstekingsremmer glucocorticosteroid (GSC). Helaas zijn de meeste mensen met COPD ongevoelig voor deze ontstekingsremmer. Onderzoek heeft uitgewezen dat er mogelijk een nieuw medicijn beschikbaar is, dat deze ongevoeligheid voor GSC zou kunnen wegnemen. Dat zou behandeling van patiënten met COPD mogelijk maken. In een muizenmodel voor COPD zal dit nieuwe medicijn uitgetest worden. Daarbij wordt bij muizen COPD geïnduceerd door hen herhaaldelijk bloot te stellen aan rook. Daarna kan het nieuwe medicijn in combinatie met GSC onderzocht worden. Het nieuwe medicijn is waarschijnlijk niet duur om te produceren, daarom is het niet uitgesloten dat dit medicijn ook beschikbaar wordt voor economisch zwakkere landen.
3.2	Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	De wereld gezondheidsorganisatie heeft berekend dat in het jaar 2020, deze aandoening aan de luchtwegen, doodsoorzaak nummer 3 wordt. Op dit moment is geen enkel medicijn beschikbaar om COPD patiënten te helpen. Wij hopen met het huidige onderzoek naar een nieuw medicijn de ongevoeligheid van mensen voor glucocorticosteroiden te kunnen verminderen, waardoor de behandeling van hun luchtwegklachten verbeterd kan worden.
3.3	Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	Voor dit onderzoek zullen er in 3 jaar tijd 200 muizen worden gebruikt.
3.4	Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?	Er kan eventuele kortademigheid optreden gedurende het model, net zoals bij COPD patiënten.
3.5	Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	Alle dierproeven in dit project zijn redelijk vergelijkbaar en de ernst van de dierproeven wordt op licht geschat.
3.6	Wat is de bestemming	Alle dieren worden gedood aan het einde van de proef. Dit gebeurt op een snelle en humane manier, waarbij het dier niet

[

van de dieren na afloop?	lijdt. Het dier moet worden gedood om goed te kunnen kijken naar de longen, weefsel en ontstekingscellen van de muis. Dit is van essentieel belang om een duidelijk resultaat naar voren te laten komen.
--------------------------	--

4 Drie V's

- | | |
|---|---|
| 4.1 Vervanging
Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden. | Het effect van de medicatie kan niet anders onderzocht worden dan in het intacte proefdier. COPD is het resultaat van complexe processen in het lichaam, waarbij het afweersysteem en met name ontstekingscellen een rol spelen. Voor het onderzoek is het bestuderen van longweefsel en ontstekingscellen van essentieel belang, waardoor het onderzoek niet bij de mens uitgevoerd kan worden. |
| 4.2 Vermindering
Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt. | Binnen de afdeling is veel ervaring met de procedure. Hierdoor kunnen wij statistische berekeningen uitvoeren waarmee we het minimale aantal dieren kunnen bepalen, die nodig zijn om een statistisch significant verschil aan te tonen. Er hoeven geen extra dieren berekend te worden voor compensatie van mogelijke uitval tijdens het experiment omdat we uit ervaring weten dat er geen dieren dood gaan. |
| 4.3 Verfijning
Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diersoort(en) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project. | In dit project gebruiken wij een muizenmodel voor COPD. Dit model is gebaseerd op literatuur gegevens waarin ook de muis gebruikt werd en daarom hebben wij dit ook gedaan. Het gebruik van de muis in COPD modellen is algemeen geaccepteerd in the literatuur. Binnen de onderzoeksafdeling is ruim 20 jaar ervaring met de beschreven experimenten, waardoor wij met zekerheid verwachten dat er tijdens het experiment geen dieren dood zullen gaan of onnodig zullen lijden. De rookblootstelling wordt zeer nauwgezet geregeld. Binnen de onderzoeksafdeling zijn verschillende technieken opgezet en geoptimaliseerd om afweer- en ademhalingsparameters in de muizen te kunnen meten die ook representatief zijn bij COPD in de mens (aantallen longcellen, typen ontstekingscellen en luchtwegfunctieveranderingen). |

[

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

Tijdens de rookblootstelling zal het gehalte aan koolmonoxide en zuurstof concentraties nauwkeurig worden gecontroleerd en aangepast. Hiermee kunnen onnodige nadelige gevolgen van het roken voorkomen worden.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer : **2015.II.243.003**
2. Titel van het project : **Nieuwe en verbeterde medicatie mogelijkheden voor COPD**
3. Titel van de NTS : **Nieuwe en verbeterde medicatie mogelijkheden voor COPD**

4. Type aanvraag:

- ☒ nieuwe aanvraag projectvergunning
☐ wijziging van vergunning met nummer :

5. Contactgegevens DEC

Naam DEC : DEC Utrecht
Telefoonnummer contactpersoon : 088 – 75 59 247
Emailadres contactpersoon : dec-utrecht@umcutrecht.nl

6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):

- ☒ ontvangen door DEC: **13-03-2015**
☒ aanvraag compleet: **13-03-2015**
☒ in vergadering besproken: **18-03-2015**
☒ anderszins behandeld: **01-04-2015 (e-mailronde)**
☒ termijnonderbreking(en) van / tot : **24-03-2015 tot 31-03-2015**
☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
☐ aanpassing aanvraag:
☒ advies aan CCD: **20-04-2015**

7. Eventueel horen van aanvrager

- Datum:
- Plaats:
- Aantal aanwezige DEC-leden:
- Aanwezige (namens) aanvrager:
- Strekking van de vraag / vragen:
- Strekking van het (de) antwoord(en):
- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag:

8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: **24-03-2015**
- Strekking van de vraag / vragen: **De DEC heeft m.b.t. de NTS gevraagd toe te lichten wat de relevantie is van het noemen van slecht geventileerde ruimtes, omdat de DEC zich afvraagt wat de haalbaarheid is van het toepassen van de resultaten in de derde wereld**

en verzocht om overtuigender te beargumenteren hoe de onderzoeker verzekert dat hij een zo gering mogelijk aantal dieren zult gebruiken.

Over het projectvoorstel heeft de DEC de volgende vragen gesteld:

- 3.1, achtergrond: De DEC vraagt zich af, gezien de vele literatuur die over het gebruik van de beschreven inhibitor – inclusief muis-rookmodellen – bekend is, of dit onderzoek niet rechtstreeks in de mens kan plaatsvinden en wat de meerwaarde is van dit onderzoek. Graag nader toelichten aan de hand van meer achtergrondinformatie.
- 3.1, achtergrond: De DEC vraagt zich af of het rookmodel het juiste model is, omdat COPD ook kan ontstaan door andere oorzaken. De DEC verzoekt u in de projectaanvraag beter te motiveren waarom dit specifieke model het voor dit onderzoek juiste model is.
- 3.1, achtergrond: De DEC vraagt zich af waar u de stelling op baseert dat PI3K-remmers zelfstandig ook een positief effect zouden kunnen hebben. Graag toelichten.
- 3.1, achtergrond: De DEC vraagt zich tenslotte af of er een resistentie te verwachten is tegen PI3K-remmers. Graag toelichten.
- 3.1, achtergrond: U schrijft dat er kleine modificaties zijn aangebracht in de PI3K remmers. Wat zijn deze modificaties en waarom zouden deze modificaties interessanter kunnen zijn dan de huidige PI3K remmers?
- 3.1, achtergrond en bijlage 1: De DEC vraagt zich af of de ongevoeligheid voor GCS bij COPD voor de muis en de mens wel hetzelfde zijn. Tevens vraagt de DEC zich af of deze ongevoeligheid bij de muis al aanwezig was, of pas later ontstaat. Bovendien vraagt de DEC zich af of deze ongevoeligheid bij de mens net zo snel te vinden is als bij de muis (na vijf dagen).
- De DEC ontvangt graag nadere informatie over het mechanisme van het ontstaan van de ongevoeligheid voor GSC. Graag toelichten.
- Datum antwoord: **31-03-2015**
- Strekking van het (de) antwoord(en): **N.a.v. de opmerkingen en vragen van de DEC is in de NTS nu duidelijk beschreven wat de relevantie is van het noemen slecht geventileerde ruimtes en is uitgelegd hoe de onderzoeker het gebruik van een zo gering mogelijk aantal dieren kan verzekeren.**

Met betrekking tot het projectvoorstel is de strekking van de antwoorden als volgt:

- De onderzoeker heeft aannemelijk gemaakt dat het onderzoek niet in mensen kan worden uitgevoerd.
- De onderzoeker beaamt dat er al veel bekend is over PI3K-remmers, maar kreeg de volgende reactie terug van het bedrijf dat de PI3K-remmers levert: "The PI3K inhibitors we are using are very potent and very Isoform selective PI3K delta, PI3K gamma, and PI3K delta/gamma inhibitors. There are no such compounds approved for use in human for respiratory diseases, and these compounds have not been previously tested for COPD. It would be unethical to use these compounds in human COPD in the absence of animal data."

- De onderzoeker heeft duidelijk aangegeven dat er is geen ander model beschikbaar is waarin glucocorticosteroid resistentie aangetoond kan worden in proefdieren. Dit staat beschreven in een tweetal toegevoegde referenties.
- De onderzoeker geeft aan dat voor 95% van de medicijnen die nu op de markt zijn geen (volledige) resistentie ontstaat. Bij psychofarmaca moet soms de dosering omhoog vanwege desensitisatie van de receptoren. Bij antibiotica ontstaat wel resistentie maar dat ligt niet aan de mens maar aan de bacterie.
- Het bedrijf dat de PI3K-remmers levert geeft aan: "The PI3K inhibitors we are using are very potent and very Isoform selective PI3K delta, PI3K gamma, and PI3K delta/gamma inhibitors." De precieze modificaties worden niet verstrekt i.v.m. patenten.
- De onderzoeker geeft aan dat niet met 100% zekerheid te zeggen is dat ongevoeligheid voor GCS bij COPD voor de muis en de mens hetzelfde zijn, maar dat er wel meerdere redenen zijn die daarvoor pleiten. De ongevoeligheid bij de muis ontstaat later, net zoals bij COPD patiënten. Deze ongevoeligheid is bij de mens niet net zo snel te vinden is als bij de muis.
- De onderzoeker geeft aan dat over het ontstaan van GCS weinig bekend is. Het algemene idee is dat reactieve zuurstof radicalen betrokken zijn bij de inductie. COPD is niet de enige ziekte waarbij GCS resistentie ontstaat. GCS resistentie komt ook voor bij andere chronische ontstekingsziekten zoals reuma en IBD, waarbij de ontstekingscellen ook radicalen produceren tijdens de afweer. COPD is een ontstekingsziekte maar in elke puf van een sigaret zitten ook nog eens 1014 radicalen dus samen met de ontstekingsreactie ontstaat GCS resistentie bij de meerderheid van de COPD patiënten. Een overmatige ontstekingsreactie en productie van radicalen in de longen is eveneens te verwachten door het verbranden van biomassa in slecht geventileerde woningen of COPD veroorzaakt door luchtvervuiling of diesel.
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag: **Ja**

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

- Aard expertise:
- Deskundigheid expert:
- Datum verzoek:
- Strekking van het verzoek:
- Datum expert advies:
- Expert advies:

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Er zijn geen DEC-leden betrokken bij het betreffende project.

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:
 - ☒ uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord.
 - ☐ uit onderwijskundig oogpunt verantwoord.
 - ☐ uit het oogpunt van productiedoeleinden verantwoord.
 - ☐ wettelijk vereist.
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en).
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een substantieel belang. **Het belang wordt ingeschat als substantieel, omdat het onderzoek kan bijdragen aan het ontwikkelen van een therapie tegen COPD. Het aantal mensen met COPD neemt wereldwijd fors toe. COPD is voor degenen die dit treft een ernstig probleem met een progressief verloop, dat de kwaliteit van leven sterk aantast, en uiteindelijk kan resulteren in een vroegtijdige dood. COPD ontstaat door kapotte longblaasjes, die veroorzaakt worden door luchtvervuiling (omgevingsfactoren), roken of een fout in de genen. Vooralsnog is COPD slechts te behandelen met een glucocorticosteroid, waarvoor de meeste COPD patiënten ongevoelig zijn. Het wegnemen van deze ongevoeligheid zou behandeling van mensen met COPD sterk kunnen verbeteren.**
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. **De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen beschikt om de projectdoelstelling met de gekozen strategie/aanpak binnen de gevraagde termijn te realiseren.**
5. Er is geen sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren:
 - ☐ Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)
 - ☐ Niet-menselijke primaten (10e)
 - ☐ Dieren in/uit het wild (10f)
 - ☐ Gefokt voor dierproeven (11)
 - ☐ Zwerfdieren (10h)
 - ☐ Hergebruik (1e lid 2)
 - ☐ Huisvesting en verzorging
 - ☐ Locatie: instelling vergunninghouder (10g)De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd.

6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. **Het ongerief is door de onderzoeker ingeschat als licht. De dieren worden 2x per dag blootgesteld aan sigarettenrook gedurende 10 opeenvolgende dagen, met mogelijk kortademigheid als gevolg. Daarnaast zullen 3 groepen dieren PI3K remmers oraal toegediend krijgen en één groep GCS intraperitoneaal. Vlak voor euthanasie zullen alle dieren voor 2 minuten individueel gehuisvest worden. Gezien de handelingen en het eventuele gevolg van kortademigheid is de DEC van mening dat dit een realistische inschatting is.**
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen. **Het is niet mogelijk om het medicijn bij mensen met COPD te testen, omdat het medicijn niet goed gekeurd is voor het gebruik bij mensen met een luchtweg aandoening en daar is ook nog geen onderzoek naar gedaan. Het effect van de medicatie kan ook niet anders onderzocht worden dan in het intacte proefdier, omdat COPD een resultaat is van processen waarbij het afweersysteem en met name ontstekingscellen een rol spelen, waardoor in vitro onderzoek niet mogelijk is. Tevens moeten longweefsel en ontstekingscellen onderzocht worden, waardoor het onderzoek niet bij de mens uitgevoerd kan worden.**
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de vermindering van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. **De DEC is van mening dat het maximale aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en proportioneel is ten opzichte van de gekozen strategie en looptijd. Er is binnen de onderzoeksgroep veel ervaring met het model, waardoor met een minimaal aantal dieren en zo min mogelijk ongerief bruikbare metingen kunnen worden gedaan in dit onderzoek.**
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de verfijning van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten. **De DEC is van mening dat het project in overeenstemming is met de vereisten ten aanzien van de verfijning van dierproeven. Binnen de onderzoeksafdeling is voldoende ervaring met de beschreven experimenten, waardoor verwacht wordt dat er tijdens het experiment geen dieren dood zullen gaan of onnodig zullen lijden. De rookblootstelling wordt zeer nauwgezet geregeld. Bovendien zal tijdens de rookblootstelling het gehalte aan koolmonoxide en zuurstof concentraties nauwkeurig worden gecontroleerd en aangepast.**
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

De DEC Utrecht heeft gediscussieerd over het gebruik van dit rookmodel en de oorzaak van COPD. COPD wordt voor een groot deel veroorzaakt door roken, waarbij men de vraag kan stellen of het etisch toelaatbaar is om dieren te gebruiken voor een ziekte die mensen zichzelf hebben aangedaan. Anderzijds was 30 jaar geleden niet bekend dat roken dermate slecht was. Nu zijn daar de gevolgen van zichtbaar. Daarnaast is roken niet de enige reden van COPD, het komt ook steeds meer voor door luchtvervuiling of, in derde wereld landen, door het koken op biomassa in slecht geventileerde ruimtes. Een andere vraag is of het rookmodel wel representatief is voor de ziekte die men nu heeft; is er verschil tussen COPD als gevolg van omgevingsfactoren of als gevolg van roken?

Ondanks de uitgebreide discussie die gevoerd is, is de DEC op grond van de onder C genoemde overwegingen unaniem van mening dat het belang van de doelstelling, namelijk het vinden van een medicijn tegen COPD, substantieel is en opweegt tegen het lichte ongerief dat de dieren in dit onderzoek zullen ondervinden. De onderzoeker heeft duidelijk gemaakt dat dit specifieke model het enige beschikbare model is waarin glucocorticosteroid resistentie aangetoond kan worden in proefdieren. Het is niet mogelijk om het medicijn bij mensen met COPD te testen en ook vitro of ex vivo modellen alternatieven zijn niet beschikbaar. De DEC acht vertaling van de resultaten naar de mens mogelijk. Dit alles brengt de DEC tot het oordeel dat het gebruik van de dieren in dit project gerechtvaardigd is.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- ☐ De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
- De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is.
 - De volgende doorslaggevende ethische bezwaren.
 - De volgende tekortkomingen in de aanvraag.
- ☐ 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 een ministeriële ontheffing vereist.
 - Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden.
- ☒ De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

Van: [REDACTED]
Verzonden: zondag 3 mei 2015 8:19
Aan: ZBO-CCD
Onderwerp: RE: Aanvullingen aanvraag AVD243002015108
Bijlagen: bijlage_-_beschrijving_dierproeven-COPD1.doc; COPD_nts1.doc; reply.docx

Geachte [REDACTED]

Bedankt voor het advise en de suggesties. Wij hebben hieronder de antwoorden weergegeven en deels verwerkt in de ingesloten formulieren.

Niet Technische Samenvatting

- In het antwoord op vraag 4.3 geeft u geen verklaring voor de diersoortkeuze. Gelieve dit alsnog te doen
- **Is nu gebeurd:** *In dit project gebruiken wij een muizenmodel voor COPD. Dit model is gebaseerd op literatuur gegevens waarin ook de muis gebruikt werd en daarom hebben wij dit ook gedaan. Het gebruik van de muis in COPD modellen is algemeen geaccepteerd in the literatuur.*
- In het antwoord op vraag 4.2 gebruikt u het woord "nihil" dat niet voor iedereen verstaanbaar is. Gelieve dit woord of de zin te veranderen. Dit is veranderd in: *dat er geen dieren dood gaan.*

Ik verzoek u een nieuwe NTS te sturen met de doorgevoerde aanpassingen.

Beschrijving dierproef

- In de beschrijving van de behandelingen van de dieren spreekt u onderaan p. 2 over een prescreen; bedoelt u hiermee de experimenten die u verderop (onderaan p. 2, doorlopend op p. 3) beschrijft?
- **Dit is inderdaad ongelukkig geformuleerd en is nu veranderd in:** *Op basis van deze ervaring, verwachten we dat wij aan 10 dieren per groep genoeg te hebben, maar dit kan nog veranderen als wij op basis van de eerste set experimenten een extreem andere variatie krijgen.*
- Kan u aangeven hoe groot het positief effect van de behandeling in de experimenten beschreven onderaan p. 2, doorlopend op p. 3 minimaal moet zijn om verder te gaan met het vervolgonderzoek?
- **Voor COPD geldt dat er geen enkel medicijn beschikbaar is, dus elke significante vermindering zou al een reden zijn om door te gaan. Echter, bij een vermindering van minimaal 30% van de verhoging zullen wij door gaan.**
- K. Inschatting van het ongerief: het is ons niet duidelijk of u bij inschatten van het ongemak t.g.v. het blootstellen aan de rook ook de onmiddellijke effecten van de blootstelling (aversie zonder ontwijkingsmogelijkheid, irritatie van ogen en luchtwegen) heeft meegenomen.
- **Hier is inderdaad al rekening mee gehouden. Het blootstellen aan de rook is irriterend en daarom wordt de blootstelling aan het aantal sigaretten per dag gedurende 4 dagen opgebouwd. Als het op deze manier gebeurd, zijn er minimale uiterlijke verschijnselen van irritatie zichtbaar. De muizen vertonen geen ander gedrag dan dat ze blootgesteld worden aan lucht. Vertonen niet of nauwelijks extra poetsgedrag of springgedrag (vermijding). De muizen krijgen ook geen rode ogen en de ademfrequentie gaat niet zichtbaar omhoog.**
- Daarnaast vragen we ons af of er binnen een periode van 10 aaneengesloten dagen al een gewenning aan de rook kan optreden (zoals u schrijft op de eerste regel op p.4). Hoe evalueert u of er bij de muizen gewenning optreedt?
- **Of er complete gewenning is, dat weten wij niet, maar op basis van het verlies aan lichaamsgewicht (wat stopt na 4 dagen rook blootstelling) nemen wij aan dat de dieren min of meer gewend zijn. Bovendien vertonen de muizen op dag 5, hun gewone gedrag indien de muizen blootgesteld worden aan rook. Ze zitten in een Perspex box met een metalen doorzichtig kooi waarin wij de**

dieren goed kunnen zien.

- En wat is het ongerief van de dieren t.g.v. de COPD-letsels en de kortademigheid? Voelen de dieren zich benauwd? Hoe beoordeelt u dit?
- Wij volgen het lichaamsgewicht van de dieren en observeren de dieren. Bovendien hebben wij al vele metingen vericht aan de luchtwegen in het wakkere dier of onder anesthesie en de basale luchtwegfunctie is niet veranderd na 5 of 10 dagen rookblootstelling. Wel hebben de muizen overgevoelige luchtwegen. Dus als wij aan stof toedienen die de luchtwegen doet samentrekken dan doen de muizen die rook hebben gehad dat meer (deze experimenten vinden plaats onder anesthesie). Af en toe is er een muis die wel wat apatisch is, met een verhoogde ademfrequentie maar dat is snel over (waarschijnlijk de nicotine die snel afgebroken wordt). Ik beschouw het ongerief van de rookprocedure en de pathologie van COPD bij de muizen als licht, mede omdat wij tijdens de rookprocedure de CO en O2 waarden monitoren en kunnen aanpassen.

De leges die u verschuldigd bent zijn nog niet door ons ontvangen of de betaling is nog niet verwerkt. Zoals in de factuur staat, moeten de leges binnen 30 dagen door ons zijn ontvangen. Uw aanvraag is niet compleet als de leges niet zijn ontvangen.

De leges zijn betaald

Looptijd van het project is ook aangepast naar 3 jaar (NTS).

Vriendelijke groet,

Van: ZBO-CCD [ZBO-CCD@minez.nl]

Verzonden: vrijdag 24 april 2015 11:36

Aan: [REDACTED]

Onderwerp: FW: Aanvullingen aanvraag AVD243002015108

Geachte [REDACTED]

Ik had nog een vraag over deze aanvraag: in de *Aanvraag Projectvergunning Dierproeven* schrijft u onder 3.1 dat het project van 01/03/2015 tot 01/03/2018 loopt, dus **3 jaar**, maar in de *Bijlage Beschrijving Dierproeven* (onder B. De dieren) en in de *Niet-technische samenvatting* (onder 1.2 Looptijd van het project) spreekt u over een looptijd van **4 jaar**.

Ik neem aan dat u een projectaanvraag voor **4 jaar** ingediend heeft. Zou u zo vriendelijk willen zijn dit formeel te bevestigen? Dit kunt u per mail doen.

Met dank en vriendelijke groet

Senior Adviseur

Centrale Commissie Dierproeven | www.zbo-ccd.nl

Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

E: ZBO-CCD@minez.nl

T: 0900 28 000 28

Van: ZBO-CCD

Verzonden: vrijdag 24 april 2015 17:39

Aan: [REDACTED]

Onderwerp: Aanvullingen aanvraag AVD243002015108

Geacht [REDACTED]

Op 21 april 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Nieuwe en verbeterde medicatie mogelijkheden voor COPD" met aanvraagnummer AVD243002015108. In uw aanvraag zitten voor mij nog enkele onduidelijkheden.

Niet Technische Samenvatting

- In het antwoord op vraag 4.3 geeft u geen verklaring voor de diersoortkeuze. Gelieve dit alsnog te doen
- In het antwoord op vraag 4.2 gebruikt u het woord "nihil" dat niet voor iedereen verstaanbaar is. Gelieve dit woord of de zin te veranderen.

Ik verzoek u een nieuwe NTS te sturen met de doorgevoerde aanpassingen.

Beschrijving dierproef

- In de beschrijving van de behandelingen van de dieren spreekt u onderaan p. 2 over een prescreen; bedoelt u hiermee de experimenten die u verderop (onderaan p. 2, doorlopend op p. 3) beschrijft?
- Kan u aangeven hoe groot het positief effect van de behandeling in de experimenten beschreven onderaan p. 2, doorlopend op p. 3 minimaal moet zijn om verder te gaan met het vervolgonderzoek?
- K. Inschatting van het ongerief: het is ons niet duidelijk of u bij inschatten van het ongemak t.g.v. het blootstellen aan de rook ook de onmiddellijke effecten van de blootstelling (aversie zonder ontwijkingsmogelijkheid, irritatie van ogen en luchtwegen) heeft meegenomen. Daarnaast vragen we ons af of er binnen een periode van 10 aaneengesloten dagen al een gewenning aan de rook kan optreden (zoals u schrijft op de eerste regel op p.4). Hoe evalueert u of er bij de muizen gewenning optreedt? En wat is het ongerief van de dieren t.g.v. de COPD-letsels en de kortademigheid? Voelen de dieren zich benauwd? Hoe beoordeelt u dit?

De leges die u verschuldigd bent zijn nog niet door ons ontvangen of de betaling is nog niet verwerkt. Zoals in de factuur staat, moeten de leges binnen 30 dagen door ons zijn ontvangen. Uw aanvraag is niet compleet als de leges niet zijn ontvangen.

Gelieve de ontbrekende informatie binnen veertien dagen op te sturen. Zonder deze informatie en de leges is de aanvraag niet compleet. De behandeling van uw aanvraag wordt vanaf vandaag opgeschort tot het moment dat uw aanvraag compleet is. Zodra de aanvullingen en de leges zijn ontvangen, wordt uw aanvraag verder in behandeling genomen.

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

Met vriendelijke groeten,

[REDACTED]
Senior Adviseur

Centrale Commissie Dierproeven | www.zbo-ccd.nl

Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

E: ZBO-CCD@minez.nl

T: 0900 28 000 28

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

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

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



Bijlage

Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	24300				
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Curax BV				
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr><tr><td>1</td><td>Rookmodel</td></tr></table>	Volgnummer	Type dierproef	1	Rookmodel
Volgnummer	Type dierproef					
1	Rookmodel					

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

De keuze van de specifieke PI3K-remmers is gebaseerd op bevindingen die gedaan zijn door Infinity Pharmaceuticals voor de ontwikkeling van een medicijn tegen rheuma (<https://www2.rheumatology.org/apps/MyAnnualMeeting/ExploreMeeting/AbstractDetail?abstractId=28433>). Om nu inzicht te krijgen in de effecten van de behandeling met PI3K-remmers in een compleet immuunsysteem en een ontstekingen in de luchtwegen, wordt er gebruik gemaakt van het in vivo rookmodel.

Primaire uitkomstparameters zijn het aantal en type ontstekingscellen in de broncho-alveolaire lavage (BAL) vloeistof. Deze BAL vloeistof wordt verkregen door de muis intraperitoneaal een overdosis euthasaat toe te dienen. Nadat de dood is ingetreden wordt er bloed afgenomen en een slangetje in de luchtpijp

gebracht en wordt er vloeistof ingespoten en terug gezogen. Het aantal en type ontstekingscellen wordt gemeten in de verkregen vloeistof. Deze cellen zijn indicatief voor de effectiviteit van de behandeling

Secondaire parameters zijn ontstekingsparameters (cytokines) in bloed en de BAL vloeistof, histologische karakterisering van het longweefsel en de luchtwegfunctie. De luchtwegfunctie wordt voorafgaand aan de euthanasie gemeten. Dit is een non-invasieve methode waarbij de dieren individueel voor 2 minuten worden gehuisvest in een perspexkamer van 30 cm in diameter en 20 cm hoog. Deze secundaire parameters zijn belangrijk om de effectiviteit te kunnen onderbouwen.

Het korte rookmodel (10 dagen) in muizen is inmiddels goed gestandaardiseerd waardoor wij in de huidige studie het effect van de specifieke PI3K remmers betrouwbaar kunnen bestuderen (1). Tevens is er heel veel ervaring opgedaan en kennis vergaard omtrent het meten van de luchtwegfunctie (2). Hierdoor kunnen we nu met een n van 10 muizen per groep duidelijke verschillen tussen de groepen meten. We zullen groepen vergelijken die niet behandeld zijn met een medicatie, dan wel behandeld zijn met specifieke PI3K-remmers, een GCS, of een combinatie therapie van GCS en specifieke PI3K-remmers. Uitsluitend noodzakelijke controle groepen worden meegenomen.

Met deze experimentele aanpak en uitleesparameters verwachten wij de onderzoeksvragen na te kunnen beantwoorden.

(1) Braber et al, An association between neutrophils and immunoglobulin free light chains in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med. 2012, 185:817-24.

(2) Verheijden et al, Measurement of airway function using invasive and non-invasive methods in mild and severe models for allergic airway inflammation in mice. Front Pharmacol. 2014, 5:190-196

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.

Muizen worden blootgesteld aan lucht of sigarettenrook voor maximaal 20-25 min, 2 maal per dag met 5 uur rust, voor 10 opeenvolgende dagen. De sigaretten zijn standaard onderzoeks-sigaretten (Kentucky) die door onze groep en andere onderzoeksgroepen al jaren wordt gebruikt (<http://www2.ca.uky.edu/refcig/>). Na 5 dagen blootgesteld te zijn aan sigarettenrook is de GCS ongevoeligheid ontwikkeld. Vanaf dag 6 tot en met dag 10 wordt de mono of combi medicatie gegeven. De PI3K remmers zullen oraal toegediend worden en de GCS intraperitoneaal. Op dag 11 worden de dieren gedood en wordt de mate van luchtwegontsteking gekwantificeerd. Alle muizen zullen voorafgaand aan de euthanasie individueel voor 2 minuten worden gehuisvest in een perspexkamer van 30 cm in diameter en 20 cm hoog om de longfunctie te meten.

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

Het korte rookmodel (10 dagen) in muizen is inmiddels goed gestandaardiseerd waardoor wij in de huidige studie het effect de PI3K remmers betrouwbaar kunnen bestuderen (1). Tevens is er heel veel ervaring opgedaan en kennis vergaard omtrent het meten van de luchtwegfunctie (2). Op basis van deze ervaring verwachten we dat wij aan 10 dieren per groep genoeg hebben, maar dit kan nog veranderen als we op basis van de prescreen een ander effect of een andere variatie verwachten. We zullen de aantallen altijd baseren op een poweranalyse. De analyse van de resultaten is een anova analyse waarbij wij posthoc, gericht kijken naar de vergelijking GSC+PI3K-remmer vs GSC vs PI3K-remmer vs controle.

- geen behandeling (lucht vs rook = 2 groepen),
- GCS behandeling (rook = 1 groepen)
- 3 verschillende PI3K-remmer behandeling (rook = 3 groepen)

- combi GCS + 3 verschillende PI3K-remmer (rook = 3 groepen)

Bij 10 dieren per groep en minimaal 9 groepen per experiment hebben wij 90 dieren per experiment nodig.

Indien er een positief effect gevonden wordt met meerdere PI3K-remmers als mono of combi therapie, dan zal er vervolg onderzoek plaatsvinden. De meest potente PI3K-remmer (op basis van celaantal en longfunctie) zal geselecteerd worden. Vervolgens zullen er 4 verschillende doseringen van de meest succesvolle PI3K-remmer uitgetest gaan worden als mono en combi therapie.

- geen behandeling (lucht vs rook = 2 groepen),

- GCS behandeling (rook = 1 groep)

- 4 verschillende PI3K-remmer behandeling (rook = 4 groepen)

- combi GCS + 4 verschillende PI3K-remmer (rook = 4 groepen)

Bij 10 dieren per groep en minimaal 11 groepen per experiment hebben wij 110 dieren per experiment nodig.

B. De dieren

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

Balb/c muizen, geregistreerde fok, 200 over 4 jaar, alle muizen zijn volwassen bij aankomst (10-12 weken).

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

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

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

☒ Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Helaas is vervanging niet mogelijk. Het effect van de medicatie kan niet anders onderzocht worden dan in het intacte proefdier omdat voor de werking van GCS en de ongevoeligheid hiervoor de interactie tussen longen, rook en het immuunsysteem nodig is. Binnen de afdeling is ruim 20 jaar ervaring met de beschreven experimenten waardoor er tijdens het experiment geen dieren dood gaan. Hierdoor hoeven we dus ook geen reserve dieren aan te vragen voor de experimenten. De rookblootstelling wordt zeer nauwgezet geregeld. De CO en O2 concentraties worden continue gemonitord en aangepast indien nodig (CO dose = 150-300 ppm en O2 concentratie = 20 %). De blootstelling aan de sigarettenrook (20-25 min) vindt per dag oplopend plaats (dag 1, 4 tot 6

sigaretten, dag 2, 8-10 sigaretten, dag 3, 12-14 sigaretten, vanaf dag 4, 14 sigaretten). Dit is gedaan om de muizen te laten wennen aan de rook en om stress en uitval te voorkomen. We gebruiken de laatste paar jaren een door ons gestandaardiseerde rookopstelling, waarbij de dieren evenwichtig over de ruimte verdeeld worden en de sigarettenrook ook. Hierdoor kunnen wij bij elk experiment eenzelfde sigarettenrook blootstelling creëren.

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

De blootstellingen aan rook zijn zo kort mogelijk gehouden om ongerief te voorkomen (zoals gewichtsverlies, verandering in ademhalingsfrequentie, suf worden). De CO wordt nauwkeurig binnen de perken gehouden (150-300 ppm) en het O₂ gehalte wordt gehandhaafd op 20%. Het lichaamsgewicht wordt elke dag gemeten en mag niet meer dan 15% dalen in 2 dagen.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

nvt

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?
☒ Nee > Ga verder met vraag I.
☐ Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?
☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.
☐ Ja
I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen
Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?
Er kan eventuele kortademigheid optreden gedurende het model, net zoals bij COPD patienten.
Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.
Dit komt door het blootstellen aan sigarettenrook, dit veroorzaakt een luchtwegontsteking waardoor de ademfrequentie kan toenemen.
Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.
De blootstellingen aan rook zijn zo kort mogelijk gehouden om ongerief te voorkomen. De CO wordt nauwkeurig binnen de perken gehouden (150-300 ppm) en het O2 gehalte wordt gemonitord op 20%. Het lichaamsgewicht wordt dagelijks gemeten.
J. Humane eindpunten
Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?
☐ Nee > Ga verder met vraag K.
☒ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.
Gewichtsverlies. Wij nemen dieren uit het experiment wanneer het gewichtsverlies groter is dan 15% binnen een periode van 2 dagen.
Ademhalingsfrequentie, obstructie van de luchtwegen en cyanose wordt in de gaten gehouden maar daar zijn in het verleden nooit problemen mee ontstaan.
Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?
<2%, op basis van de afgelopen 20 jaar werken met dit rookmodel, weten we dat er incidenteel een dier kan uitvallen door niet proef gerelateerde zaken, dat is het risico van het werken met levende dieren.
K. Classificatie van ongerief
Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.
Licht

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

☐ Nee > Ga verder met de ondertekening.

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

Orgaan isolatie en post mortem onderzoek. Daarmee kunnen wij essentiële metingen doen, namelijk de ontstekingscellen in de longen (BAL), en naar ontstekings-eiwitten in het bloed kijken.

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

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

☒ Ja



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Curax B.V.

Mijndensedijk 41a
3631 NN Nieuwersluis
Nederland

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.zbo-ccd.nl

T 0900-2800028 (10 ct /min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD243002015108
Uw referentie

Bijlagen
1

Datum 13 mei 2015

Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte heer/mevrouw,

Op 21 april 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Nieuwe en verbeterde medicatiemogelijkheden voor COPD" met aanvraagnummer AVD243002015108. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 03 mei 2015 en op 12 mei heeft u uw aanvraag aangevuld. Enerzijds om enkele verduidelijkingen over de fasering en de ongeriefinschatting van het onderzoek te geven, anderzijds om enkele tekstuele aanpassingen in de niet-technische samenvatting door te voeren.

Beslissing

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

U kunt met uw project "Nieuwe en verbeterde medicatiemogelijkheden voor COPD" starten. De vergunning wordt afgegeven van 13 mei 2015 tot en met 01 maart 2018.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de dierexperimentencommissie Academische Dierexperimentencommissie Utrecht gevoegd. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet. Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de dierexperimentencommissie. Wij nemen dit advies van de commissie over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering, behalve voor wat de ongeriefinschatting betreft: die schatten we in als zijnde matig. Wij baseren ons hiervoor op Bijlage VIII van de EU-richtlijn 2010/63/EU¹.

Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Bezwaar

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

¹ Bijlage VIII van de EU-richtlijn 2010/63/EU, Deel III, 2 (Matig ongerief): "k) Ontkomings- en vermijdingsreacties uitlokken, waarbij het dier niet in staat is aan de prikkel te ontkomen of die te vermijden en waarbij naar verwachting matige angst wordt veroorzaakt."

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

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

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

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

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

De Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:



ir. G. de Peuter
Algemeen Secretaris

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

Bijlagen

- Vergunning

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

Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Curax B.V.
Adres: Mijndensedijk 41a
Postcode en woonplaats: 3631 NN Nieuwersluis
Deelnemersnummer: AVD24300

deze projectvergunning voor het tijdvak 13 mei 2015 tot en met 01 mei 2018, voor het project "Nieuwe en verbeterde medicatiemogelijkheden voor COPD" met aanvraagnummer AVD243002015108, volgens advies van Dierexperimentencommissie Academische Dierexperimentencommissie Utrecht . Hierbij is afgeweken van het DEC-advies omdat wij het ongerief inschatten als zijnde matig.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is CSO. Voor de uitvoering van het project is een analiste verantwoordelijk.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 21 april 2015
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 21 april 2015;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale op 21 april 2015 en in aangepaste versie op 12 mei 2015.
 - c. Advies van dierexperimentencommissie d.d. 20 april 2015, ontvangen op 21 april 2015

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst	Voorwaarden
Rookmodel	Muis (Mus musculus)	200	matig	geen

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister van Economische Zaken een ontheffing is verleend.

Verzorging

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

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

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

Pijnbestrijding en verdoving

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

Einde van een dierproef

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

zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand.

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

Uit artikel 13c 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 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.

Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Curax B.V.
Adres: Mijndensedijk 41a
Postcode en woonplaats: 3631 NN Nieuwersluis
Deelnemersnummer: AVD24300

deze projectvergunning voor het tijdvak 13 mei 2015 tot en met 01 mei 2018, voor het project "Nieuwe en verbeterde medicatiemogelijkheden voor COPD" met aanvraagnummer AVD243002015108, volgens advies van Dierexperimentencommissie Academische Dierexperimentencommissie Utrecht . Hierbij is afgeweken van het DEC-advies omdat wij het ongerief inschatten als zijnde matig.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is CSO. Voor de uitvoering van het project is een analiste verantwoordelijk.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 21 april 2015
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 21 april 2015;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale op 21 april 2015 en in aangepaste versie op 12 mei 2015.
 - c. Advies van dierexperimentencommissie d.d. 20 april 2015, ontvangen op 21 april 2015

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst	Voorwaarden
Rookmodel	Muis (Mus musculus)	200	matig	geen

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister van Economische Zaken een ontheffing is verleend.

Verzorging

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

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

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

Pijnbestrijding en verdoving

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

Einde van een dierproef

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

Datum

13 mei 2015

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD243002015108

zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand.

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

Uit artikel 13c 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 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.