

		Inventaris Wob-verzoek W17-07								
			wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.		document NTS 2016788	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
1		Aanvraagformulier				x		x		
2		NTS initieel			x					
3		NTS aangepast	x							
4		Projectvoorstel			x					
5		bijlage dierproeven origineel			x					
6		bijlage dierproeven aangepast			x					
7		DEC advies				x		x		
8		Ontvangstbevestiging				x		x		
9		Mailwisseling aanvulling				x		x		
10		Advies CCD		x						x
11		Beschikking en vergunning				x		x		



21 DEC. 2016

Aanvraag**Projectvergunning Dierproeven**
Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl, 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 90700 ☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	InnoSer Laboratories BV
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[Redacted]
		KvK-nummer	61886890
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	Zernikedreef 9
		Postbus	
		Postcode en plaats	2333CK Leiden
		IBAN	NL22ABNA0581547756
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	InnoSer Laboratories
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted] ☒ Dhr. ☐ Mw.
		Functie	[Redacted]
		Afdeling	
		Telefoonnummer	[Redacted]
		E-mailadres	[Redacted]
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	☐ Dhr. ☐ Mw.
		Functie	
		Afdeling	
		Telefoonnummer	
		E-mailadres	

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

2 Over uw aanvraag

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

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- Startdatum 1 - 2 - 2017
- Einddatum 31 - 1 - 2022
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Onderzoek naar de biodistributie van nieuwe, op oligonucleotiden gebaseerde, teststoffen voor de behandeling van zeer ernstige en zeldzame monogene aandoeningen.
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Onderzoek naar de biodistributie van nieuwe, op oligonucleotiden gebaseerde, teststoffen voor de behandeling van zeer ernstige en zeldzame monogene aandoeningen.
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC DEC RUG
- Postadres A. Deusinglaan 1,
9713 AV GRONINGEN
- E-mailadres secrdec.umcg@umcg.nl

4 Betaalgegevens

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

5 Checklist bijlagen

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

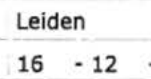
6 Ondertekening

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

Centrale Commissie
 Dierproeven
 Postbus 20401
 2500 EK Den Haag

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

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

Naam 
 Functie 
 Plaats Leiden
 Datum 16 - 12 - 2016
 Handtekening 



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 | Onderzoek naar de biodistributie van nieuwe, op oligonucleotiden gebaseerde, teststoffen voor de behandeling van zeer ernstige en zeldzame genetische aandoeningen. |
| 1.2 Looptijd van het project | 5 jaar |
| 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) | Biodistributie, kinetiek, centraal zenuwstelsel, oogziekten, huidaandoeningen |

2 Categorie van het project

- | | |
|--|---|
| 2.1 In welke categorie valt het project. | ☐ Fundamenteel onderzoek |
| | ☒ Translationeel of toegepast onderzoek |
| | ☐ Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie |
| <i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i> | ☐ 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)	Het doel van het huidige project is om antwoord te geven op de vraag waar onze oligonucleotiden terecht komen (en welke lokale concentratie) na enkele of herhaalde toediening en of we effecten zien op orgaan/cel-niveau, mogelijke afweer (immunogeniciteit) of giftigheid (toxiciteit) en of we daarin verschillen zien in het gebruik van verschillende formuleringen en/of toedieningswijzen bij de muis. Dit omdat de distributie en opname door doelwit organen en celtypen een uitdaging blijft en daarmee de translatie van in vitro en in silico (proof-of-concept) experimenten naar preklinische en klinische studies, het uiteindelijke doel is het ontwikkelen van nieuwe medicijnen.
-----	---	--

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

We verwachten dat dit project bijdraagt aan (ofwel essentieel is voor) de ontwikkeling van nieuwe medicijnen naar verschillende centraal zenuwstelsel-, oog- en huidaandoeningen zoals: vorm van Alzheimer, ziekte van Huntington, Ataxie van Friedreich, Leber congenital amaurosis (LCA), Usher, Fuchs en Epidermolysis bullosa - allen zeer ernstige en zeldzame genetische aandoeningen. Ook proberen we antwoord te krijgen op de vraag waar de nieuwe therapeutische stoffen terechtkomen in het lichaam. Komen de oligonucleotiden in de hersenen, wat is de biobeschikbaarheid (plasmaconcentraties) bij die dosering en kunnen we dat verhogen door een andere manier van toediening te kiezen? Naar aanleiding van de uitkomsten van de experimenten kunnen we de medicijnen verder het ontwikkelingstraject in helpen en daarmee hopen we een bijdrage in de ontwikkeling van nieuwe medicijnen tegen deze ernstige ziekten te kunnen leveren.

3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?

1600 muizen, geslacht is ons geval niet van belang. Om te bepalen of de teststof op de juiste plek (orgaan niveau, celtype en intracellulaire lokalisatie) terecht komt na toediening, maar ook in welke lokale concentratie zijn diverse proefopzetten nodig.

Over het algemeen is een studie opgebouwd uit een aantal experimenten:

1: een enkele middel-hoge dosis (op basis van literatuur), gevolgd door lokalisatie, concentratie en halfwaarde bepaling van een aantal tijdspunten (bijv. 0u, 24u, 48u, 7d, 14d) in diverse (doel) weefsels. Ook zullen diverse bepalingen voor immunogeniciteit en toxiciteit worden gedaan;

2: Vervolgens wordt het experiment uitgevoerd door verschillende concentraties (laag, midden, hoog) teststof op het optimale tijdspunt bepaald in (1) te doseren en als laatste wordt;

3: Het effect van herhaaldelijk doseren getest op basis van de uitkomsten van 1 en 2.

Voor concentratie/halfwaarde bepalingen en microscopische analyse is een minimale groepsgrootte van 3 muizen per tijdspunt/dosering nodig (op basis van eerdere experimenten) en zijn controlegroepen essentieel (onbehandeld / placebo). Gemiddeld zal een experiment uit 30-40 muizen bestaan en zal met het huidige aantal ziektebeelden en capaciteit 4 studies per jaar uitgevoerd kunnen worden (160 muizen/jaar) – over een periode van 5 jaar zijn dit 800 muizen. Het exacte aantal muizen en de statistische onderbouwing (indien mogelijk) zal per experiment verschillen dan zal met de IvD afgestemd worden.

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

Het welzijn van de dieren wordt aangetast door het feit dat de dieren stoffen krijgen toegediend via verschillende toedieningstechnieken, evenals bloedafnames. Waar noodzakelijk wordt ongerief zoveel mogelijk beperkt door anesthesie toe te passen.

3.5	Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	Matig
3.6	Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	Dood in de proef

4 Drie V's

4.1	Vervanging Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdier vrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.	Proefdier vrije alternatieven kunnen helaas niet worden gebruikt omdat we de biodistributie gegevens nodig hebben om verder het ontwikkeltraject te komen. Het gehele en intacte dier is noodzakelijk om de effecten van absorptie, distributie, metabolisme en excretie in kaart te brengen. Voordat een teststof in dieren getest zal worden zijn er diverse zogenaamde “lead selection” studies uitgevoerd welke grofweg bestaan uit: (1) in silico en literatuur analyse voor effectiviteit, toxiciteit en immunogeniciteit van de teststof. (2) in vitro studies met humane (patiënten) primaire en cellijnen naar effectiviteit (vaststellen van een dose-response), toxiciteit en immunogeniciteit.
4.2	Vermindering Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.	Er wordt altijd het minimale aantal dieren gebruikt dat nodig is om een uitspraak te kunnen doen over de biodistributie van de betreffende stof. We geven maximaal 40 per experiment op, maar zullen waarschijnlijk per stof met veel minder dieren toe kunnen. Deze aantallen zijn echter nodig om meerdere formuleringen en technieken toe te kunnen passen. Iedere wijziging zal daarnaast worden afgestemd met de IVD alvorens de proef verder uit te breiden.
4.3	Verfijning Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen	De muis is bij uitstek geschikt, de muis is klein en eenvoudig te huisvesten en te hanteren. Daarnaast is er jarenlange ervaring met de muis, en zijn er bovendien voor een later stadium ook genetisch gemodificeerde modellen

diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

beschikbaar welke een goed model zouden kunnen zijn voor een of meerdere ziektes waarin we geïnteresseerd zijn.

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

In het algemeen wordt het welzijn van de dieren zorgvuldig gemonitord, de dieren krijgen voldoende water, voer, beddingmateriaal en kooiverrijking. Bovendien worden de dieren gehanteerd door ervaren personen en indien noodzakelijk wordt anesthesie toegepast. We hopen hiermee de negatieve gevolgen voor de muis zoveel mogelijk te beperken en toch goede resultaten te verkrijgen.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf



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. | 90700 |
| 1.2 | Vul de naam van de instelling of organisatie in. | InnoSer Laboratories BV |
| 1.3 | Vul de titel van het project in. | Onderzoek naar de biodistributie van nieuwe, op oligonucleotiden gebaseerde, teststoffen voor de behandeling van zeer ernstige en zeldzame monogene aandoeningen. |

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.

De aanleiding voor dit project is de vraag naar gegevens met betrekking tot de biodistributie van nieuwe therapeutische stoffen (oligonucleotiden) in verschillende formuleringen. Voorafgaand aan al het experimentele werk is de meeste recente literatuur en zijn de patentdatabases bestudeerd om vast te stellen dat de teststof daadwerkelijk 'nieuw' is en toepasbaar is als therapie. De aanvraag is opgezet om als een routinematige proef door een CRO uit te laten voeren, derhalve zien wij de aanvraag als een uit de categorie toegepast onderzoek.

In de ontwikkeling van nieuwe op oligonucleotiden gebaseerde medicijnen is het van belang dat we te weten komen waar de nieuwe therapeutische stoffen terecht komen op macroscopisch niveau (welke orgaan, gedeelte van orgaan), microscopisch (in welke cellen) en sub-cellulair (celkern of cytoplasma) – en wat zijn de (relatieve) lokale concentraties. Daarnaast is het van belang om de bio beschikbaarheid te bepalen (plasmaconcentraties) bij een bepaalde dosering en kunnen we dat verhogen door een andere manier van toediening of door een andere formulering?

Het geheel richt zich op meerdere zeldzame en zeer ernstige monogene aandoeningen van onder andere: centraal zenuwstelsel-, oog- en huid waar op dit moment nog geen goede therapie beschikbaar voor is. Het gaat hier om ziektes waarbij enkele of meerdere mutaties in een enkel gen de oorzaak zijn van de aandoening en daardoor dus in aanmerking komen voor een op oligonucleotiden gebaseerde platform technologie als therapie. Voor het centraal zenuwstelsel richten wij ons op een vorm van Alzheimer, ziekte van Huntington en Ataxie van Friedreich; voor oog richten wij ons op Leber congenital amaurosis (LCA), Usher en Fuchs; voor huid richten wij ons op Epidermolysis bullosa.

De nieuwe therapeutische stoffen zijn gebaseerd op oligonucleotiden platform technologie welke mechanismes als RNA modulatie of DNA editing

gebruikt met als doel een normaal functionerend eiwit tot expressie te laten brengen.

Antisense oligonucleotides (AONs) zijn een veelbelovende vorm van therapie. Echter, de distributie en opname door doelwit organen en celtypen blijft een uitdaging en daarmee de translatie van in vitro en in silico (proof-of-concept) experimenten naar preklinische en klinische studies. Bij in vitro studies gebruikmakende van primaire - patiënten en - muis cel lijnen wordt gebruik gemaakt van transfectie reagentia om de AONs in de cellen te krijgen en is een waardevolle en relatieve simpele methode om de beste kandidaten te selecteren. Deze reagentia zijn niet toepasbaar in vivo door de toxische effecten en daarom zijn er in vivo studies nodig om ook distributie en opname van de desbetreffende kandidaat te bepalen. Een recente en zeer uitgebreide review door Dr. Juliano geeft een goed overzicht over de verschillende chemische modificaties van oligonucleotides, het effect op de bio distributie en deze uitdagingen (1). Er zijn een diverse barrières met betrekking tot de opname van AONs door het doelwitweefsel: uitscheiding door de nieren, de bloed-retina / bloed-hersen barrière en het endotheel als barriere (na systemische toediening). Om deze hindernissen te overwinnen zijn er recentelijk diverse (klinische) successen geboekt voor neurologische en oog aandoeningen door gebruik te maken van (1) directe toediening in het brein d.m.v. intrathecale en intra-ventriculaire injecties (2–6) – en directe injectie in het corpus vitreum d.m.v. intravitreale injectie (7,8). (2) Uitscheiding door nieren is te verminderen door de binding van de AONs aan serum eiwitten (zoals BSA) te verhogen door gebruik te maken van chemische modificaties zoals de phosphorothioaat i.p.v. fosfaat ketens. Om AONs door de endotheel barrière te laten gaan kan gebruik gemaakt worden van zogenaamde lipide-particles en nanocarriers (9,10). Daarnaast kan zogenaamde ‘target delivery’ van doelwitweefsel/celtypen worden bereikt door gebruik te maken van de koppeling van specifieke receptor liganten aan de AONs.

De exacte beschrijving van het werkingsmechanisme wordt niet gegeven omdat dit een nieuwe en unieke uitvinding is welke momenteel (deels) valt onder internationaal patentrecht.

Referenties:

1. Juliano RL. *The delivery of therapeutic oligonucleotides*. *Nucleic Acids Res*. 2016;347(6228):gkw236.
2. Lagier-Tourenne C, Baughn M, Rigo F, Sun S, Liu P, Li H-R, et al. *Targeted degradation of sense and antisense C9orf72 RNA foci as therapy for ALS and frontotemporal degeneration*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(47):E4530-9.
3. Ostergaard ME, Southwell AL, Kordasiewicz H, Watt AT, Skotte NH, Doty CN, et al. *Rational design of antisense oligonucleotides targeting single nucleotide polymorphisms for potent and allele selective suppression of mutant Huntingtin in the CNS*. *Nucleic Acids Res*. 2013;41(21):9634–50.
4. Kordasiewicz HB, Stanek LM, Wancewicz E V., Mazur C, McAlonis MM, Pytel KA, et al. *Sustained Therapeutic Reversal of Huntington’s Disease by Transient Repression of Huntingtin Synthesis*. *Neuron*. 2012;74(6):1031–44.
5. Rigo F, Chun SJ, Norris D a, Hung G, Lee S, Matson J, et al. *Pharmacology of a central nervous system delivered 2’-O-methoxyethyl-modified survival of motor neuron splicing oligonucleotide in mice and nonhuman primates*. *J Pharmacol Exp Ther*. 2014;350(1):46–55.
6. Chiriboga CA, Swoboda KJ, Darras BT, Iannaccone ST, Montes J, De Vivo DC, et al. *Results from a phase 1 study of nusinersen (ISIS-SMNRx) in children with spinal muscular atrophy*. *Neurology*. 2016;86(10):890–7.
7. Hutcherson SL, Lanz R. *A randomized controlled clinical trial of intravitreal fomivirsen for treatment of newly diagnosed peripheral*

cytomegalovirus retinitis in patients with aids. Am J Ophthalmol. 2002;133(4):467–74.

8. Gérard X, Perrault I, Munnich A, Kaplan J, Rozet J-M. Intravitreal Injection of Splice-switching Oligonucleotides to Manipulate Splicing in Retinal Cells. *Mol Ther Acids. 2015;4(9):e250.*

9. Zhao J, Feng S-S. Nanocarriers for delivery of siRNA and co-delivery of siRNA and other therapeutic agents. *Nanomedicine (Lond). 2015;10(14):2199–228.*

10. Lorenzer C, Dirin M, Winkler AM, Baumann V, Winkler J. Going beyond the liver: Progress and challenges of targeted delivery of siRNA therapeutics. *J Control Release. 2015;203:1–15.*

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

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

Het doel van het huidige project is om antwoord te geven op de vraag waar onze teststof terecht komt (en welke lokale concentratie) na enkele of herhaalde toediening en of we effecten zien op orgaan/cel-niveau, mogelijke immunogeniciteit/toxiciteit en of we daarin verschillen zien in het gebruik van verschillende formuleringen en toedieningswijzen bij de muis.

3.3 Belang

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

Maatschappelijk bestaat er vraag naar de ontwikkeling van nieuwe medicijnen voor de ziektes onder 3.1. genoemd. Een onderdeel van de ontwikkeling bestaat uit het bekijken van de biodistributie van de potentieel nieuwe medicijnen in muizen. Dit is essentieel voordat er verder gegaan kan worden in het ontwikkelingstraject.

De huidige studie richt zich op de ontwikkeling van nieuwe medicijnen voor meerdere centrale zenuwstelsel-, oog/ en huidaandoeningen.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Het project bestaat uit meerdere 'dezelfde' studies die dezelfde soort nieuwe oligonucleotiden op verschillende wijze in verschillende formuleringen testen. Effectiviteit en immunogeniciteit/toxiciteit van de oligonucleotiden wordt altijd eerst in vitro getest voordat er naar bio distributie gekeken wordt.

De opzet is algemeen gekozen omdat het therapeutische effect lokaal (CNS, oog, huid) verwacht wordt: voor centraal zenuwstelsel aandoeningen is het belangrijk dat de stof in de hersenen terecht komt en in de juiste cellen (bijv. neuronen). Dit zal een eerste opzet zijn, vervolgens (in hetzelfde experiment) zullen we willen testen welke lokale concentraties in het brein worden bereikt, of is er bijvoorbeeld een andere formulering

en/of, dosering regime en/of toediening rechtstreeks in de hersenen noodzakelijk?

Een soortgelijk opzet geldt ook voor onderzoek naar teststoffen voor oog en huid aandoeningen.

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

Het project bestaat uit een enkele studies die beoogt meerdere toedieningswijzen in verschillende formulering te testen om de biodistributie/kinetiek en immunogeniciteit van de nieuwe oligonucleotide stoffen in kaart te brengen.

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.

Er wordt onderzoek gedaan naar de biodistributie van dezelfde nieuwe oligonucleotide teststoffen voor meerdere aandoeningen. In principe zal de samenhang grotendeels als volgt zijn:

Eerst wordt er in diverse in vitro studies gekeken naar de effectiviteit van de teststoffen in cellijnen van patiënten en indien mogelijk ook van muismodellen. Vervolgens zal ook gekeken worden naar toxiciteit en immunogeniciteit van deze teststoffen.

Vervolgens wordt bepaald welke toedieningsmethode en formulering zich het beste leent voor de ontwikkeling (op basis van literatuur en andere eerdere studies). Aan de hand van de eerste resultaten in vivo wordt bekeken of een andere toedieningswijze en/of formulering noodzakelijk is, dat kan worden gebaseerd op de kinetiek van de stof, moleculair bewijs van effect of zichtbaar bewijs van de aanwezigheid van het molecuul zelf. Ook de resultaten van immunogeniciteit zijn van belang hier, dat wordt bepaald aan de hand van cytokines, flow cytometrische analyse en/of immunohistochemie.

Per aandoening kunnen specifieke toedieningswijzen noodzakelijk zijn; Bij het centraal zenuwstelsel kunnen de toedieningswijzen variëren van oraal tot bijvoorbeeld rechtstreeks in de hersenen m.b.v. een stereotact of intrathecaal; voor aandoeningen van het oog kan het noodzakelijk zijn om intravitreaal te injecteren en voor aandoeningen in de huid is bijvoorbeeld subcutaan of topicaal een geschikte toedieningswijze. Dat zal per experiment vooraf worden afgestemd met de IvD.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Biodistributie van nieuwe oligonucleotiden in de muis.
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Bijlage

Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	90700	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	InnoSer Laboratories	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		1	Biodistributie van nieuwe oligonucleotiden in de muis.

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.

Deze dierproef is noodzakelijk voor het onderzoeken van de biodistributie van nieuwe oligonucleotiden in de muis voor verschillende aandoeningen.

De dieren krijgen een gelabelde teststof een- of meermalig toegediend via een specifiek geselecteerde methode aan de hand van de verwachtingen van de formulering, en vervolgens wordt er een analyse gedaan naar de biodistributie van oligonucleotiden in de muis.

De uitleesparameters zijn als volgt:

- Hoeveelheid teststof in het plasma na toediening (PK)
- Macroscopische lokalisatie na toediening (hoeveelheid fluorescentie per orgaan).

- Cellulaire en nucleaire lokalisatie van de stof m.b.v. confocale microscopie
- Verder worden diverse immunologische parameters geanalyseerd, zoals cytokine bepalingen, flow cytometrie en immunohistochemie.

Indien we de gelabelde teststof niet kunnen lokaliseren na toediening is dit een duidelijke no-go. Er zijn diverse kwantitatieve (concentratie teststof) en semi-kwantitatieve (lokalisatie van teststof) uitleesparameters welke gebruikt kunnen worden voor statistische onderbouwing van de groepsgroottes. Uitkomsten van een pilot studie waarbij een enkele dosering van de teststof wordt gegeven en na diverse tijdstippen weefsels verzameld voor analyse (concentratie en lokalisatie) zal dienen als uitgangspunt voor de vervolgstudies. Gegevens van ieder stadium van de dierproef worden gebruikt om het aantal dieren per groep te bepalen voor het volgende stadium. Deze aantallen zullen per experiment onderbouwd worden doormiddel van powercalculaties en vooraf met de IvD afgestemd worden. Over het algemeen worden voor een dergelijke studie ongeveer 40 dieren gebruikt en verwachten we 4 studies per jaar uit te voeren (160 dieren per jaar, 800 dieren in 5 jaar).

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

De behandeling van de dieren zal zijn: een of meerdere toedieningen van nieuwe oligonucleotiden in verschillende formuleringen via potentieel verschillende toedieningswijzen. Zoals geschreven kan per aandoening de toedieningswijze verschillen. Bij het centraal zenuwstelsel kunnen de toedieningswijzen uitstrekken van oraal tot bijvoorbeeld rechtstreeks in de hersenen m.b.v. een stereotact of intrathecaal; voor aandoeningen van het oog kan het noodzakelijk zijn om intravitreaal te injecteren en voor aandoeningen in de huid is bijvoorbeeld subcutaan of topicaal een goede toedieningswijze.

Voor de plasma analyses kan op meerdere dagen bloed worden afgenomen, dat kan na een of meerdere (dagen na) doseringen. Bij de terminale bloedafname onder anesthesie worden ook organen uitgenomen.

In onderstaande tabel worden de verschillende technieken benoemd.

Nr.	Aard	Duur	Frequentie	Ongeriefinschatting
	<u>Toedieningswijzen</u>			
1	IP injectie	1 min	<u>1-12</u>	<u>2</u>
2	Oraal doseren	1 min	<u>1-12</u>	<u>2</u>
3	IV injectie	2 min	<u>1-12</u>	<u>2</u>
4	Intranasaal doseren	1 min	<u>1-12</u>	<u>3</u>
5	IM injectie	1 min	<u>1-12</u>	<u>2</u>
6	Subcutaan injectie	1min	<u>1-12</u>	<u>2</u>
7	Topicale toediening	1min	<u>1-12</u>	<u>2</u>
8	Intravitreaal	1 min	<u>1</u>	<u>3</u>
9	Intracerebrale injecties	10 min	<u>1</u>	<u>3</u>
10	Intrathecale injecties	5 min	<u>1</u>	<u>3</u>
	<u>Afname technieken</u>			

11	Bloedafname (Wangplexus)	1 min	<u>1-4</u>	<u>2</u>
12	Bloedafname (Staartvene)	1 min	<u>1-4</u>	<u>2</u>
13	Terminale bloedafname onder anesthesie	1 min	<u>1</u>	<u>2</u>
	<u>Andere technieken</u>			
14	Huisvesten in metabolisme kooi	4 uur	<u>1-2</u>	<u>2</u>
15	Wegen	1 min	<u>1-28</u>	<u>2</u>

In bovenstaande tabel zal een eventuele toediening meerdere keren worden gedaan, in dit stadium van de ontwikkeling verwachten we maximaal 4 weken om de dag te doseren, maar dat zal lang niet altijd gelden. Intranasaal, intravitreaal, intracerebrale en intrathecale toediening zal onder anesthesie gebeuren, vandaar een hogere ongeriefinschatting. Het om de dag ip of iv injecteren met stoffen die een 'mild' effect hebben schatten we in als gering ongerief (zie hiervoor Directive 2010/63, annex VIII, sectie III, 1f).

Bloedafname volumes en frequenties zullen beperkt worden volgens Diehl et al 2001, er is rekening gehouden met 4 maal een bloedafname, waarbij gekozen wordt tussen de wang- of staarttechniek.

Terminale bloedafname kan gedaan worden enkele dagen of enkele weken na toediening.

Gemiddeld genomen is de halfwaardetijd van de nieuwe oligonucleotide in hersenen hoger dan in het oog en het oog weer hoger dan in de huid of andere organen.

De verwachte terminale bloedafnames zijn daarmee maximaal, 10, 6 en 4 weken na dosering voor respectievelijk CNS, oog en huid. In eerste instantie worden kortere tijdsperiodes ook meegenomen om een indicatie van de pharmacokinetiek te krijgen.

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

Er is geen statistiek onderhevig aan de studie, dit hangt af per studie. Bij de meeste bio distributiestudies is de uitkomst: 'komt de teststof op de plaats van bestemming terecht (intranuclear)' niet kwantitatief en is het eerder een kwestie of het te detecteren is in het desbetreffende orgaan, celtype, en subcellulaire locatie.

Voor concentratie/halfwaarde bepalingen en microscopische analyse is een minimale groepsgrootte van 3 muizen per tijdspunt/dosering nodig (op basis van eerdere experimenten) en zijn controlegroepen essentieel (onbehandeld / placebo).

B. De dieren

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

De muis zal waar mogelijk uit eigen fok zijn, wildtypes (C57Black6/J) waar geen experiment mee gedaan kan worden, of ze zullen worden besteld bij een erkende leverancier. Daarnaast kan ook gebruik gemaakt worden van CAG-EGFP654 muizen, deze muizen zijn genetisch gemodificeerd en brengen eGFP, met daarin een alternatieve splice site, in iedere cel tot expressie. Een specifieke oligonucleotide sequentie kan deze splice site blokkeren en dit resulteert in de aanmaak van het, gemakkelijk te meten, fluorescente eiwit eGFP. Op deze manier kan er naast biodistributie ook de effectiviteit (dose-response) van een specifieke oligo eenvoudig bestudeerd worden.

De CAG-EGFP654 muizen ondervinden geen intrinsiek ongerief door de aangebrachte modificatie.

De muizen zullen over het algemeen als jong volwassen-volwassen worden gebruikt, gemiddeld zal een experiment uit 30-40 muizen bestaan en zal met het huidige aantal ziektebeelden en capaciteit 4 studies per jaar uitgevoerd kunnen worden (160 muizen/jaar) – over een periode van 5 jaar zijn dit 800 muizen.

Het exacte aantal muizen en de statistische onderbouwing (indien mogelijk) zal per experiment verschillen en zal met de IvD afgestemd worden. De sexe is niet van groot belang, in voorkomende gevallen zullen we beide gebruiken, indien er een sexe gekozen wordt zal dit worden afgestemd en met redenen omkleed met de IvD, indien agressiviteit optreedt zal de voorkeur uitgaan naar vrouwen omdat die minder vechten.

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.

Proefdiervrije alternatieven kunnen helaas niet worden gebruikt omdat we de biodistributie gegevens nodig hebben om verder het ontwikkeltraject tot een medicijn te komen. Het gehele en intacte dier is noodzakelijk om de effecten van absorptie, distributie, metabolisme en excretie van de oligonucleotiden in kaart te brengen.

Voordat een teststof in dieren getest zal worden zijn er diverse zogenaamde “lead selection” studies uitgevoerd welke grofweg bestaan uit:

1: *in silico* en literatuur analyse voor effectiviteit, toxiciteit en immunogeniciteit van de teststof;

2: *in vitro* studies met humane (patiënten) primaire en cellijnen naar effectiviteit (vaststellen van een dose-response), toxiciteit en immunogeniciteit.

Er wordt altijd het minimale aantal dieren gebruikt dat nodig is om een uitspraak te kunnen doen over de biodistributie van de betreffende stof. We geven maximaal 40 per experiment op, maar zullen waarschijnlijk per stof met veel minder dieren toe kunnen. Deze aantallen zijn echter nodig om meerdere formuleringen en technieken toe te kunnen passen. Iedere wijziging zal daarnaast worden afgestemd met de IVD alvorens de proef verder uit te breiden.

Qua monitoring zal van de dieren worden bijgehouden hoeveel bloed er is afgenomen en er geen maximale waarden (Diehl et al., 2001) worden overschreden. Met betrekking tot de experimenten wordt er zoveel mogelijk data gehaald uit een individuele muis en naar aanleiding van de resultaten wordt pas, na afstemming met de IvD, een volgende stap in het project genomen, en wordt er bijvoorbeeld een andere formulering of

toedieningswijze gekozen.

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.

Alle dieren beschikken over voldoende voer, water, rust, en kooiverrijking, ook zullen de personen betrokken bij de studie bekwaam (en bevoegd) zijn. Gezien de werking van de nieuwe oligonucleotide verwachten we geen toxische effecten, pijn, lijden of angst, ook de formuleringen zullen dusdanig gekozen worden dat we hiervan geen negatieve effecten op het dierenwelzijn verwachten.

Injectietechnieken worden waar nodig uitgevoerd onder anesthesie.

We verwachten geen nadelige milieueffecten.

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.

Deze dierproef is nieuw en/of noodzakelijk voor het in kaart brengen van de biodistributie van nieuwe oligonucleotiden, dit bepaalt mede het succes waarmee het medicijn al dan niet kan worden ontwikkeld.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

☐ Nee > Ga verder met vraag I.

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

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

Sommige injectietechnieken die vrij invasief zijn en waarbij het standaard is dat er anesthesie wordt toegepast zullen onder Isofluraan worden uitgevoerd om de dieren zo min mogelijk stress te laten ervaren, de stress zal hierbij bestaan uit het bijkomen uit de anesthesie, dat schatten wij in als matig.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Geen

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

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

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.

Het kan voorkomen na een aantal injecties dat een muis irritaties krijgt, omdat het standaard technieken zijn verwachten we dat dit vrijwel niet zal voorkomen. Bijzondere of ingrijpende technieken worden maximaal eenmaal uitgevoerd. We zullen de code of practice welzijnsbewaking en interne procedures aanhouden.

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

<1%

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.

Cumulatief wordt het ongerief ingeschat als matig, ingegeven door de meervoudige doseringen en het eventueel meervoudig bijkomen uit

anesthesie, er worden geen toxische effecten van de nieuwe oligonucleotiden verwacht (hiervoor wordt specifiek in vitro gescreend).
De standaard code of practice dierenwelzijnsbewaking wordt altijd aangehouden.

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.

Het doden van de dieren is onderdeel van het experiment omdat er organen worden afgenomen voor analyses.

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



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.	90700	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	InnoSer Laboratories	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		1	Biodistributie van nieuwe oligonucleotiden in de muis.

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.

Deze dierproef is noodzakelijk voor het onderzoeken van de biodistributie van nieuwe oligonucleotiden in de muis voor verschillende aandoeningen.

De dieren krijgen een gelabelde teststof een- of meermalig toegediend via een specifiek geselecteerde methode aan de hand van de verwachtingen van de formulering, en vervolgens wordt er een analyse gedaan naar de biodistributie van oligonucleotiden in de muis.

De uitleesparameters zijn als volgt:

- Hoeveelheid teststof in het plasma na toediening (PK)
- Macroscopische lokalisatie na toediening (hoeveelheid fluorescentie per orgaan).

- Cellulaire en nucleaire lokalisatie van de stof m.b.v. confocale microscopie
- Verder worden diverse immunologische parameters geanalyseerd, zoals cytokine bepalingen, flow cytometrie en immunohistochemie.

Indien we de gelabelde teststof niet kunnen lokaliseren na toediening is dit een duidelijke no-go. Er zijn diverse kwantitatieve (concentratie teststof) en semi-kwantitatieve (lokalisatie van teststof) uitleesparameters welke gebruikt kunnen worden voor statistische onderbouwing van de groepsgroottes. Uitkomsten van een pilot studie waarbij een enkele dosering van de teststof wordt gegeven en na diverse tijdstippen weefsels verzameld voor analyse (concentratie en lokalisatie) zal dienen als uitgangspunt voor de vervolg studies. Gegevens van ieder stadium van de dierproef worden gebruikt om het aantal dieren per groep te bepalen voor het volgende stadium. Deze aantallen zullen per experiment onderbouwd worden doormiddel van powercalculaties en vooraf met de IvD afgestemd worden. Over het algemeen worden voor een dergelijke studie ongeveer 40 dieren gebruikt en verwachten we 4 studies per jaar uit te voeren (160 dieren per jaar, 800 dieren in 5 jaar).

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

De behandeling van de dieren zal zijn: een of meerdere toedieningen van nieuwe oligonucleotiden in verschillende formuleringen via potentieel verschillende toedieningswijzen. Zoals geschreven kan per aandoening de toedieningswijze verschillen. Bij het centraal zenuwstelsel kunnen de toedieningswijzen uitstrekken van oraal tot bijvoorbeeld rechtstreeks in de hersenen m.b.v. een stereotact of intrathecaal; voor aandoeningen van het oog kan het noodzakelijk zijn om intravitreaal te injecteren en voor aandoeningen in de huid is bijvoorbeeld subcutaan of topicaal een goede toedieningswijze.

Voor de plasma analyses kan op meerdere dagen bloed worden afgenomen, dat kan na een of meerdere (dagen na) doseringen. Bij de terminale bloedafname onder anesthesie worden ook organen uitgenomen.

In onderstaande tabel worden de verschillende technieken benoemd.

Nr.	Aard	Duur	Frequentie	Ongeriefinschatting
	<u>Toedieningswijzen</u>			
1	IP injectie	1 min	<u>1-12</u>	<u>2</u>
2	Oraal doseren	1 min	<u>1-12</u>	<u>2</u>
3	IV injectie	2 min	<u>1-12</u>	<u>2</u>
4	Intranasaal doseren	1 min	<u>1-12</u>	<u>3</u>
5	IM injectie	1 min	<u>1-12</u>	<u>2</u>
6	Subcutaan injectie	1min	<u>1-12</u>	<u>2</u>
7	Topicale toediening	1min	<u>1-12</u>	<u>2</u>
8	Intravitreaal	1 min	<u>1</u>	<u>3</u>
9	Intracerebrale injecties	3 min	<u>1</u>	<u>3</u>
10	Intrathecale injecties	3 min	<u>1</u>	<u>3</u>
	<u>Afname technieken</u>			

11	Bloedafname (Wangplexus)	1 min	<u>1-4</u>	<u>2</u>
12	Bloedafname (Staartvene)	1 min	<u>1-4</u>	<u>2</u>
13	Terminale bloedafname onder anesthesie	1 min	<u>1</u>	<u>2</u>
	<u>Andere technieken</u>			
14	Huisvesten in metabolisme kooi	4 uur	<u>1-2</u>	<u>2</u>
15	Wegen	1 min	<u>1-28</u>	<u>2</u>

In bovenstaande tabel zal een eventuele toediening meerdere keren worden gedaan, in dit stadium van de ontwikkeling verwachten we maximaal 4 weken om de dag te doseren, maar dat zal lang niet altijd gelden. Intranasaal, intravitreaal, intracerebrale en intrathecale toediening zal onder anesthesie gebeuren, vandaar een hogere ongeriefinschatting. Het om de dag ip of iv injecteren met stoffen die een 'mild' effect hebben schatten we in als gering ongerief (zie hiervoor Directive 2010/63, annex VIII, sectie III, 1f).

Bloedafname volumes en frequenties zullen beperkt worden volgens Diehl et al 2001, er is rekening gehouden met 4 maal een bloedafname, waarbij gekozen wordt tussen de wang- of staarttechniek.

Terminale bloedafname kan gedaan worden enkele dagen of enkele weken na toediening.

Gemiddeld genomen is de halfwaardetijd van de nieuwe oligonucleotide in hersenen hoger dan in het oog en het oog weer hoger dan in de huid of andere organen.

De verwachte terminale bloedafnames zijn daarmee maximaal, 10, 6 en 4 weken na dosering voor respectievelijk CNS, oog en huid. In eerste instantie worden kortere tijdsperiodes ook meegenomen om een indicatie van de pharmacokinetiek te krijgen.

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

Er is geen statistiek onderhevig aan de studie, dit hangt af per studie. Bij de meeste bio distributiestudies is de uitkomst: 'komt de teststof op de plaats van bestemming terecht (intranuclear)' niet kwantitatief en is het eerder een kwestie of het te detecteren is in het desbetreffende orgaan, celtype, en subcellulaire locatie.

Voor concentratie/halfwaarde bepalingen en microscopische analyse is een minimale groepsgrootte van 3 muizen per tijdspunt/dosering nodig (op basis van eerdere experimenten) en zijn controlegroepen essentieel (onbehandeld / placebo).

B. De dieren

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

De muis zal waar mogelijk uit eigen fok zijn, wildtypes (C57Black6/J) uit bijvoorbeeld een (andere) heterozygote fok waar dat moment geen experiment mee gedaan kan worden, of ze zullen worden besteld bij een erkende leverancier. Daarnaast kan ook gebruik gemaakt worden van CAG-EGFP654 muizen, deze muizen zijn genetisch gemodificeerd en brengen eGFP, met daarin een alternatieve splice site, in iedere cel tot expressie. Een specifieke oligonucleotide sequentie kan deze splice site blokkeren en dit resulteert in de aanmaak van het, gemakkelijk te meten, fluorescente eiwit eGFP. Op deze manier kan er naast biodistributie ook de effectiviteit (dose-response) van een specifieke oligo eenvoudig bestudeerd worden.

De CAG-EGFP654 muizen ondervinden geen intrinsiek ongerief door de aangebrachte modificatie.

De muizen zullen over het algemeen als jong volwassen-volwassen worden gebruikt, gemiddeld zal een experiment uit 30-40 muizen bestaan en zal met het huidige aantal ziektebeelden en capaciteit 4 studies per jaar uitgevoerd kunnen worden (160 muizen/jaar) – over een periode van 5 jaar zijn dit 800 muizen.

Het exacte aantal muizen en de statistische onderbouwing (indien mogelijk) zal per experiment verschillen en zal met de IvD afgestemd worden.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

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

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

☒ Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Proefdiervrije alternatieven kunnen helaas niet worden gebruikt omdat we de biodistributie gegevens nodig hebben om verder het ontwikkeltraject tot een medicijn te komen. Het gehele en intacte dier is noodzakelijk om de effecten van absorptie, distributie, metabolisme en excretie van de oligonucleotiden in kaart te brengen.

Voordat een teststof in dieren getest zal worden zijn er diverse zogenaamde “lead selection” studies uitgevoerd welke grofweg bestaan uit:

1: *in silico* en literatuur analyse voor effectiviteit, toxiciteit en immunogeniciteit van de teststof;

2: *in vitro* studies met humane (patiënten) primaire en cellijnen naar effectiviteit (vaststellen van een dose-response), toxiciteit en immunogeniciteit.

Er wordt altijd het minimale aantal dieren gebruikt dat nodig is om een uitspraak te kunnen doen over de biodistributie van de betreffende stof. We geven maximaal 40 per experiment op, maar zullen waarschijnlijk per stof met veel minder dieren toe kunnen. Deze aantallen zijn echter nodig om meerdere formuleringen en technieken toe te kunnen passen. Iedere wijziging zal daarnaast worden afgestemd met de IVD alvorens de proef verder uit te breiden.

Qua monitoring zal van de dieren worden bijgehouden hoeveel bloed er is afgenomen en er geen maximale waarden (Diehl et al., 2001) worden overschreden. Met betrekking tot de experimenten wordt er zoveel mogelijk data gehaald uit een individuele muis en naar aanleiding van de resultaten wordt pas, na afstemming met de IvD, een volgende stap in het project genomen, en wordt er bijvoorbeeld een andere formulering of toedieningswijze gekozen.

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.

Alle dieren beschikken over voldoende voer, water, rust, en kooiverrijking, ook zullen de personen betrokken bij de studie bekwaam (en bevoegd) zijn. Gezien de werking van de nieuwe oligonucleotide verwachten we geen toxische effecten, pijn, lijden of angst, ook de formuleringen zullen dusdanig gekozen worden dat we hiervan geen negatieve effecten op het dierenwelzijn verwachten.

Injectietechnieken worden waar nodig uitgevoerd onder anesthesie.

We verwachten geen nadelige milieueffecten.

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.

Deze dierproef is nieuw en/of noodzakelijk voor het in kaart brengen van de biodistributie van nieuwe oligonucleotiden, dit bepaalt mede het succes waarmee het medicijn al dan niet kan worden ontwikkeld.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?
☐ Nee > Ga verder met vraag I.
☒ Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?
☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.
☒ Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.
Sommige injectietechnieken die vrij invasief zijn en waarbij het standaard is dat er anesthesie wordt toegepast zullen onder Isofluraan worden uitgevoerd om de dieren zo min mogelijk stress te laten ervaren, de stress zal hierbij bestaan uit het bijkomen uit de anesthesie, dat schatten wij in als matig.
I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen
Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?
Geen
Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.
Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.
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.
Het kan voorkomen na een aantal injecties dat een muis irritaties krijgt, omdat het standaard technieken zijn verwachten we dat dit vrijwel niet zal voorkomen. Bijzondere of ingrijpende technieken worden maximaal eenmaal uitgevoerd. We zullen de code of practice welzijnsbewaking en interne procedures aanhouden.
Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?
<1%
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.
Cumulatief wordt het ongerief ingeschat als matig, ingegeven door de meervoudige doseringen en het eventueel meervoudig bijkomen uit anesthesie, er worden geen toxische effecten van de nieuwe oligonucleotiden verwacht (hiervoor wordt specifiek in vitro gescreend).

De standaard code of practice dierenwelzijnsbewaking wordt altijd aangehouden.

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.

Het doden van de dieren is onderdeel van het experiment omdat er organen worden afgenomen voor analyses.

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

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

☒ Ja

Format DEC-advies

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

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

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: Interne RUG code **8072**
 2. Titel van het project: **Onderzoek naar de biodistributie van nieuwe, op oligonucleotiden gebaseerde, teststoffen voor de behandeling van zeer ernstige en zeldzame monogene aandoeningen.**
 3. Titel van de NTS: **Onderzoek naar de biodistributie van nieuwe, op oligonucleotiden gebaseerde, teststoffen voor de behandeling van zeer ernstige en zeldzame genetische aandoeningen.**
 4. Type aanvraag:
 - ☐ **nieuwe aanvraag projectvergunning**
 5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: **DEC-RUG**
 - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
 - e-mailadres contactpersoon: [REDACTED]
 6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ☐ ontvangen door DEC: **05-10-2016**
 - ☐ aanvraag compleet: **05-10-2016**
 - ☐ in vergadering besproken: **17-10-2016**
 - ☐ anderszins behandeld: **06-12-2016**
 - ☐ termijnonderbreking(en) van / tot: **17-10-2016 tot 17-11-2016 en 06-12-2016 tot**
 - ☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen: **n.v.t.**
 - ☐ aanpassing aanvraag: **17-11-2016, -12-2016**
 - ☐ advies aan CCD: **13-12-2016**
 7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD.
De IvD heeft aangegeven dat de aanvraag met de IvD is afgestemd.
- Bij de punten 8 t/m 10 kan worden volstaan met 'n.v.t.' wanneer de betreffende acties niet aan de orde zijn geweest.*
8. Eventueel horen van aanvrager: **n.v.t.**
 - Datum
 - Plaats
 - Aantal aanwezige DEC-leden
 - Aanwezige (namens) aanvrager
 - Gestelde vraag / vragen
 - Verstrekt(e) antwoord(en)

- Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: **17-10-2016**

Gestelde vraag/opmerking:

1/Er bestaat een ruime hoeveelheid wetenschappelijke literatuur over de potentie van oligonucleotiden als potentiële therapie. Waarom deze informatie volledig ontbreekt in deze aanvraag is onduidelijk. Er is ook zeer veel literatuur over de farmacokinetiek en de distributie van oligonucleotiden over organen. Ook hierover is niets te vinden in aanvraag.

2/Over het ongerief: wat is het ongerief van 28 opeenvolgende i.p. injecties en de andere voorgestelde invasieve methoden?

3/Onder A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters, de statistiek: een opgevoerd criterium is of een stof te detecteren is ja of nee. Dit zou beter onderbouwd moeten worden. Waarom er 40 dieren in een studie worden gebruikt is niet navolgbaar. Wanneer is iets gedetecteerd? Welke criteria worden daarvoor gebruikt? Deze vraag kwam ook naar voren in het IvD afstemmingsdocument en is niet beantwoord. Onder 'B. de dieren': hier wordt een methode geïntroduceerd hoe bio-distributie wordt gemeten. Dit hoort bij 'experimentele aanpak', bij het kopje "dieren" wordt andere informatie gevraagd. Het opgevoerde aantal van 1600 dieren lijkt de capaciteit weer te geven, maar niet het werkelijk aantal benodigde dieren.

4/ De 3V's zijn slecht uitgewerkt (dit is in de NTS al een stuk beter). Dit is ook aangegeven in het IvD afstemmingsdocument.

Datum antwoord: **17-11-2016**

- Verstrek(e) antwoord(en):

1/Toegevoegd onder 3.1: Antisense oligonucleotides (AONs) zijn een veelbelovende vorm van therapie. Echter, de distributie en opname door doelwit organen en celtypen blijft een uitdaging en daarmee de translatie van in vitro en in silico (proof-of-concept) experimenten naar preklinische en klinische studies. Bij in vitro studies gebruikmakende van primaire - patiënten en - muis cel lijnen wordt gebruik gemaakt van transfectie reagentia om de AONs in de cellen te krijgen en is een waardevolle en relatieve simpele methode om de beste kandidaten te selecteren. Deze reagentia zijn niet toepasbaar in vivo door de toxische effecten en daarom zijn er in vivo studies nodig om ook distributie en opname van de desbetreffende kandidaat te bepalen.

Een recente en zeer uitgebreide review door Dr. Juliano geeft een goed overzicht over de verschillende chemische modificaties van oligonucleotides, het effect op de bio distributie en deze uitdagingen (1). Er zijn een diverse barrières met betrekking tot de opname van AONs door het doelwitweefsel: uitscheiding door de nieren, de bloed-retina / bloed-hersen barrière en het endotheel als barrière (na systemische toediening). Om deze hindernissen te overwinnen zijn er recentelijk diverse (klinische) successen geboekt voor neurologische en oog aandoeningen door gebruik te maken van (1) directe toediening in het brein d.m.v. intrathecale en intra-ventriculaire injecties (2-6) – en directe injectie in het corpus vitreum d.m.v. intravitreale injectie (7,8). (2) Uitscheiding door nieren is te verminderen door de binding van de AONs aan serum eiwitten (zoals BSA) te verhogen door gebruik te maken van chemische modificaties zoals de phosphorothioaat i.p.v. fosfaat ketens. Om AONs door de endotheel barrière te laten gaan kan gebruik gemaakt worden van zogenaamde lipide-particles en nanocarriers (9,10). Daarnaast kan zogenaamde 'target delivery' van doelwitweefsel/celtypen worden bereikt door gebruik te maken van de koppeling van specifieke receptor liganten aan de AONs.

Referenties

1. Juliano RL. The delivery of therapeutic oligonucleotides. *Nucleic Acids Res.* 2016;347(6228):gkw236.
2. Lagier-Tourenne C, Baughn M, Rigo F, Sun S, Liu P, Li H-R, et al. Targeted degradation of sense and antisense C9orf72 RNA foci as therapy for ALS and frontotemporal degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(47):E4530-9.
3. Ostergaard ME, Southwell AL, Kordasiewicz H, Watt AT, Skotte NH, Doty CN, et al. Rational design of antisense oligonucleotides targeting single nucleotide polymorphisms for potent and allele selective suppression of mutant

Huntingtin in the CNS. Nucleic Acids Res. 2013;41(21):9634–50.

4. Kordasiewicz HB, Stanek LM, Wancewicz E V., Mazur C, McAlonis MM, Pytel KA, et al. Sustained Therapeutic Reversal of Huntington's Disease by Transient Repression of Huntingtin Synthesis. *Neuron. 2012;74(6):1031–44.*

5. Rigo F, Chun SJ, Norris D a, Hung G, Lee S, Matson J, et al. Pharmacology of a central nervous system delivered 2'-O-methoxyethyl-modified survival of motor neuron splicing oligonucleotide in mice and nonhuman primates. *J Pharmacol Exp Ther. 2014;350(1):46–55.*

6. Chiriboga CA, Swoboda KJ, Darras BT, Iannaccone ST, Montes J, De Vivo DC, et al. Results from a phase 1 study of nusinersen (ISIS-SMNRx) in children with spinal muscular atrophy. *Neurology. 2016;86(10):890–7.*

7. Hutcherson SL, Lanz R. A randomized controlled clinical trial of intravitreal fomivirsen for treatment of newly diagnosed peripheral cytomegalovirus retinitis in patients with aids. *Am J Ophthalmol. 2002;133(4):467–74.*

8. Gérard X, Perrault I, Munnich A, Kaplan J, Rozet J-M. Intravitreal Injection of Splice-switching Oligonucleotides to Manipulate Splicing in Retinal Cells. *Mol Ther Acids. 2015;4(9):e250.*

9. Zhao J, Feng S-S. Nanocarriers for delivery of siRNA and co-delivery of siRNA and other therapeutic agents. *Nanomedicine (Lond). 2015;10(14):2199–228.*

10. Lorenzer C, Dirin M, Winkler AM, Baumann V, Winkler J. Going beyond the liver: Progress and challenges of targeted delivery of siRNA therapeutics. *J Control Release. 2015;203:1–15.*

2/ Na interne evaluatie hebben we hier maximaal om de dag met een maximaal aantal van 12 injecties. De overige zaken zijn ook bekeken en her en der iets aangepast naar 'minder'. Het ongerief schatten we in als gering, deze tekst is bijgevoegd: In bovenstaande tabel zal een eventuele toediening meerdere keren worden gedaan, in dit stadium van de ontwikkeling verwachten we maximaal 4 weken om de dag te doseren, maar dat zal lang niet altijd gelden. Intranasaal, intravitreaal, intracerebrale en intrathecale toediening zal onder anesthesie gebeuren, vandaar een hogere ongeriefinschatting. Het om de dag ip of iv injecteren met stoffen die een 'mild' effect hebben schatten we in als gering ongerief (zie hiervoor Directive 2010/63, annex VIII, sectie III, 1f).

3/ Onder A is de tekst aangepast naar: Deze dierproef is noodzakelijk voor het onderzoeken van de biodistributie van nieuwe oligonucleotiden in de muis voor verschillende aandoeningen. De dieren krijgen een gelabelde teststof een- of meermalig toegediend via een specifiek geselecteerde methode aan de hand van de verwachtingen van de formulering, en vervolgens wordt er een analyse gedaan naar de biodistributie van oligonucleotiden in de muis. De uitleesparameters zijn als volgt:

-Hoeveelheid teststof in het plasma na toediening (PK)- Macroscopische lokalisatie na toediening (hoeveelheid fluorescentie per orgaan).

-Cellulaire en nucleaire lokalisatie van de stof m.b.v. confocale microscopie

- Verder worden diverse immunologische parameters geanalyseerd, zoals cytokine bepalingen, flow cytometrie en immunohistochemie. Indien we de gelabelde teststof niet kunnen lokaliseren na toediening is dit een duidelijke no-go. Er zijn diverse kwantitatieve (concentratie teststof) en semi-kwantitatieve (lokalisatie van teststof) uitleesparameters welke gebruikt kunnen worden voor statistische onderbouwing van de groepsgroottes. Uitkomsten van een pilot studie waarbij een enkele dosering van de teststof wordt gegeven en na diverse tijdstippen weefsels verzameld voor analyse (concentratie en lokalisatie) zal dienen als uitgangspunt voor de vervolgstudies. Gegevens van ieder stadium van de dierproef worden gebruikt om het aantal dieren per groep te bepalen voor het volgende stadium. Deze aantallen zullen per experiment onderbouwd worden doormiddel van powercalculaties en vooraf met de IvD afgestemd worden. Over het algemeen worden voor een dergelijke studie ongeveer 40 dieren gebruikt en verwachten we 4 studies per jaar uit te voeren (160 dieren per jaar, 800 dieren in 5 jaar).

4/ De 3V's zijn beter uitgewerkt, onder D staat nu als volgt beschreven: Proefdiervrije alternatieven kunnen helaas niet worden gebruikt omdat we de biodistributie gegevens nodig hebben om verder het ontwikkeltraject tot een medicijn te komen. Het gehele en intacte dier is noodzakelijk om de effecten van absorptie, distributie, metabolisme en excretie van de oligonucleotiden in kaart te brengen.

Voordat een teststof in dieren getest zal worden zijn er diverse zogenaamde "lead selection" studies uitgevoerd welke grofweg bestaan uit: 1: in silico en literatuur analyse voor effectiviteit, toxiciteit en immunogeniciteit van de teststof; 2: in vitro studies met humane (patiënten) primaire en cellijnen naar effectiviteit (vaststellen van een dose-response), toxiciteit en immunogeniciteit. Er wordt altijd het minimale aantal dieren gebruikt dat nodig is om een uitspraak te kunnen doen over de biodistributie van de betreffende stof. We geven maximaal 40 per experiment op, maar zullen waarschijnlijk per stof met veel minder dieren toe kunnen. Deze aantallen zijn echter nodig om meerdere formuleringen en

technieken toe te kunnen passen. Iedere wijziging zal daarnaast worden afgestemd met de IVD alvorens de proef verder uit te breiden. Qua monitoring zal van de dieren worden bijgehouden hoeveel bloed er is afgenomen en er geen maximale waarden (Diehl et al., 2001) worden overschreden. Met betrekking tot de experimenten wordt er zoveel mogelijk data gehaald uit een individuele muis en naar aanleiding van de resultaten wordt pas, na afstemming met de IVD, een volgende stap in het project genomen, en wordt er bijvoorbeeld een andere formulering of toedieningswijze gekozen.

- **De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag**

10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC): **n.v.t.**

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

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? **Ja**
2. Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is.
Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies.

3. De aanvraag betreft een **nieuwe aanvraag**

4. Is de DEC competent om hierover te adviseren? **Ja**

5. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies.
Indien van toepassing, licht toe waarom. **n.v.t.**

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft (*Zie handreiking 'Invulling definitie project'; zie bijlage I voor toelichting en voorbeeld*).

Deze aanvraag heeft een concrete doelstelling en kan getypeerd worden als een CRO-project. De DEC vertrouwt erop dat de aanvrager gedurende het project op zorgvuldige wijze besluiten zal nemen over de voortgang van het project en er niet onnodig dieren gebruikt zullen worden. De DEC is van mening dat de aanvraag toetsbaar is als CRO-project.

2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Flora- en faunawet).

Niet tot de taken van de DEC behorend overeenkomstig de WoD.

3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën)

aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel. **De doelcategorie sluit aan bij de hoofddoelstelling.**

Belangen en waarden

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

Het directe doel is het bepalen van de biodistributie van verschillende formuleringen en toedieningsvormen van oligonucleotiden in vivo. Het uiteindelijke doel is te komen tot betere behandelingen van (zeldzame) monogene aandoeningen van onder andere centraal zenuwstelsel-, oog- en huid waarbij het gaat om ziektes waarbij enkele of meerdere mutaties in een enkel gen de oorzaak zijn van de aandoening. Deze ziektes komen in aanmerking voor een op oligonucleotiden gebaseerde platform technologie als therapie. Er is geen directe en reële relatie tussen het directe en uiteindelijke doel temeer daar het een CRO-project betreft. Het uiteindelijke doel zal niet binnen de looptijd van het project gehaald worden. Het project is gericht op het bepalen van de biodistributie van verschillende formuleringen en toedieningsvormen van oligonucleotiden in vivo. Deze informatie is essentieel in het bepalen van de strategie voor verdere ontwikkeling van, op oligonucleotiden gebaseerde, therapie. De aanvrager heeft duidelijk gemaakt wat dit project kan bijdragen aan de ontwikkeling van therapie van ziektes t.g.v. gen mutaties middels oligonucleotiden: het directe doel is dus gerechtvaardigd binnen de context van het onderzoeksveld.

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

De belangrijkste belanghebbenden in dit translationele project, wat gericht is op het onderzoek naar zeldzame monogene aandoeningen waar geen effectieve behandeling voor is, zijn de proefdieren, en de doelgroep/patiënt en diens naasten.

Waarden die voor proefdieren in het geding zijn: de integriteit van de dieren zal worden aangetast, de dieren zullen beperkt worden in hun natuurlijke gedrag en gedurende de proeven zullen de dieren stress ondervinden en ongerief ondergaan.

Waarden die voor patiënten bevorderd worden: de gezondheid van patiënten kan verbeterd worden. Hierdoor kan de kwaliteit van leven verbeterd worden van patiënten en van hun naasten.

6. Geef aan of er sprake kan zijn van substantiële milieueffecten. Zo ja, benoem deze, leg uit waarom daar sprake van kan zijn en geef aan of deze effecten afgedekt worden door specifieke wet- en regelgeving op het gebied van het omgaan met voor het milieu risicovolle stoffen of organismen.
Niet tot de taken van de DEC behorend overeenkomstig de WoD.

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij

de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C5*). **Voor zover de DEC kan beoordelen zijn de kennis en kunde van de onderzoeksgroep adequaat gezien de wetenschappelijke output alsmede de aandacht voor de drie V's**

8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C6*). **De DEC is er van overtuigd dat het projectvoorstel aansluit bij recente wetenschappelijke inzichten en geen hiaten bevat die de bruikbaarheid van de resultaten in de weg zullen staan. De voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters zijn logisch en helder gekozen en sluiten aan bij de aangegeven doelstellingen en de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen naar de mening van de DEC leiden tot het behalen van de doelstelling in het kader van het project.**

Welzijn dieren

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

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

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

11. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). **De DEC vertrouwt erop dat de aanvrager al het mogelijke zal doen om het eventuele ongerief voor de proefdieren te identificeren, te verminderen en waar mogelijk te voorkomen.**

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

13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

Naar de mening van de DEC zijn de humane eindpunten goed gedefinieerd. Parameters die bepalen of welzijn aan zou kunnen tasten zijn gedefinieerd en worden bepaald.

3V's

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

De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Distributie van oligonucleotiden over weefsels en organen is alleen in vivo te bepalen.

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

Naar de mening van de DEC is het aantal te gebruiken dieren realistisch ingeschat en wel zodanig dat niet meer dan nodig, maar ook niet minder dan nodig dieren worden gebruikt voor het behalen van een betrouwbaar wetenschappelijke resultaat zulks mede gebaseerd op de door de aanvrager aangeleverde literatuur referenties.

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

De DEC heeft zich ervan verzekerd dat de aanvrager al het mogelijke zal doen om het eventuele ongerief voor de proefdieren te identificeren, te verminderen en waar mogelijk te voorkomen. Hierbij heeft de DEC onder andere de pijnbestrijding en huisvesting in haar beoordeling betrokken.

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

Voor zover de DEC kan beoordelen zijn de kennis en kunde van de onderzoeksgroep adequaat en mede gezien het daartoe strekkende antwoord van de aanvrager in de projectaanvraag heeft de DEC reden aan te nemen dat onnodige duplicatie achterwege blijft.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

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

In onderhavige projectaanvraag worden dieren van beide geslachten

gebruikt. De onderzoeker heeft naar de mening van de DEC deze keuze in de projectaanvraag voldoende onderbouwd. Alhoewel de DEC-RUG vermindering van proefdieren in voorraad gedood toejuicht is zij overigens van mening dat dit aspect met name met de centrale dienst proefdieren en de aanvrager kortgesloten dient te worden daar de DEC niet betrokken is bij de fok en aankoop van proefdieren.

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

Naar de mening van de DEC is dit genoegzaam beschreven in de projectaanvraag door de aanvrager.

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

NTS

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

Naar de mening van de DEC is zulks het geval.

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.A*).

Rechtvaardigt de doelstelling van het project “Onderzoek naar de biodistributie van nieuwe, op oligonucleotiden gebaseerde, teststoffen voor de behandeling van zeer ernstige en zeldzame monogene aandoeningen”, de opoffering en het matige ongerief, dat de dieren wordt aangedaan in het onderhavige project?

2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.B; zie bijlage I voor voorbeelden*).

**Waarden die voor de proefdieren in het geding zijn: matig nadeel.
Waarden die voor de onderzoekers bevorderd worden: dit aspect is voor de weging door de DEC-RUG niet relevant.**

Waarden die voor de doelgroep bevorderd worden: mogelijk substantieel voordeel.

Algemeen: vergroting van medische kennis met betrekking tot het ontwikkelen van behandelingen van (zeldzame) monogene aandoeningen.

De DEC-RUG is van mening dat de belangen van de samenleving en de patiënten en hun naasten binnen het project "Onderzoek naar de biodistributie van nieuwe, op oligonucleotiden gebaseerde, teststoffen voor de behandeling van zeer ernstige en zeldzame monogene aandoeningen" zwaarder wegen dan de belangen/waarden van de proefdieren. Voor de betrokken proefdieren leiden deze proeven, na matig ongerief, tot de dood. Zij worden door de experimenten in hun welzijn geschaad. Ten gevolge van de proeven zullen de dieren geen stress ondervinden of pijn ondergaan. De integriteit van de dieren zal worden aangetast door de genetische veranderingen en opoffering aan het eind van de proeven.

Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit project echter leiden tot een relevante uitbreiding van medisch-wetenschappelijke kennis over het ontwikkelen van behandelingen van (zeldzame) monogene aandoeningen middels oligonucleotiden.

Vandaar dat de DEC-RUG het onderhavige onderzoek, zowel vanuit wetenschappelijk als vanuit maatschappelijk oogpunt, van substantieel belang acht. Het is aannemelijk dat de doelstelling behaald zal worden. De onderzoekers zullen zoveel mogelijk trachten het lijden van de dieren te beperken, waardoor het werkelijke ongerief van de dieren beperkt blijft in relatie tot het te behalen voordeel.

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

De DEC-RUG beantwoordt de centrale morele vraag, vermeld onder D1, bevestigend.

Hoewel de DEC-RUG de intrinsieke waarde van het dier onderschrijft en oog heeft voor het te ondergane ongerief van de proefdieren, weegt het substantiële belang van dit project naar haar mening zwaarder.

De DEC-RUG is van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De onderzoekers beschikken over de benodigde kennis en technische expertise. Er is geen sprake van duplicatie.

In de gekozen strategie wordt op bevredigende wijze tegemoetgekomen aan de vereisten van vervanging, vermindering en verfijning. De DEC-RUG is er van overtuigd dat de aanvrager voldoende maatregelen treft om zowel het ongerief van de dieren als het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken. De DEC-RUG is ervan overtuigd dat er geen alternatieven zijn, waardoor deze dierproef met minder ongerief of met minder, dan wel zonder levende dieren zou kunnen worden uitgevoerd.

Op grond van deze overwegingen beschouwt de DEC-RuG de voorgestelde dierproeven in het projectvoorstel “Onderzoek naar de biodistributie van nieuwe, op oligonucleotiden gebaseerde, teststoffen voor de behandeling van zeer ernstige en zeldzame monogene aandoeningen.” als ethisch gerechtvaardigd en voorziet de DEC-RuG derhalve het onderhavige projectvoorstel van een positief advies.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

☐ **De DEC adviseert de vergunning te verlenen.**

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

Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.B*).

N.v.t. De DEC is overigens niet gewoon projectaanvragen buiten de context c.q. haar verantwoordelijkheid en competentie te beoordelen.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Innoser Laboratories BV



Zernikedreef 9

2333 CK LEIDEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD907002016788

Bijlagen

2

Datum 19 december 2016

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 16 december 2016. Het gaat om uw project "Onderzoek naar de biodistributie van nieuwe, op oligonucleotiden gebaseerde, teststoffen voor de behandeling van zeer ernstige en zeldzame monogene aandoeningen.". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD907002016788. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

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

Factuur

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

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:

19 december 2016

Aanvraagnummer:

AVD907002016788

Datum:
19 december 2016
Aanvraagnummer:
AVD907002016788

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 90700
Naam instelling of organisatie: Innoser Laboratories BV
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: 61886890
Straat en huisnummer: Zernikedreef 9
Postcode en plaats: 2333 CK LEIDEN
IBAN: NL22ABNA0581547756
Tenaamstelling van het
rekeningnummer: InnoSer Laboratories

Gegevens verantwoordelijke uitvoering proces

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u?

- ☒ Nieuwe aanvraag
☐ Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
☐ Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Datum:

19 december 2016

Aanvraagnummer:

AVO07002016788

Over uw project

Geplande startdatum:

1 februari 2017

Geplande einddatum:

31 januari 2022

Titel project:

Onderzoek naar de biodistributie van nieuwe, op oligonucleotiden gebaseerde, teststoffen voor de behandeling van zeer ernstige en zeldzame monogene aandoeningen.

Titel niet-technische samenvatting:

Onderzoek naar de biodistributie van nieuwe, op oligonucleotiden gebaseerde, teststoffen voor de behandeling van zeer ernstige en zeldzame monogene aandoeningen.

Naam DEC:

DEC Rug

Postadres DEC:

A. Deusinglaan 1, [REDACTED] 9713 AV GRONINGEN

E-mailadres DEC:

secredec.umcg@umcg.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen:

€ 935,-

De leges voldoet u:

na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen:

- ☒ Projectvoorstel
☒ Beschrijving Dierproeven
☒ Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen:

- ☒ DEC-advies

Ondertekening

Naam:

[REDACTED]

Functie:

[REDACTED]

Plaats:

Leiden

Datum:

16 december 2016



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Innoser Laboratories BV



Zernikedreef 9

2333 CK LEIDEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD907002016788

Bijlagen

2

Datum 19 december 2016

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 19 december 2016

Vervaldatum: 18 januari 2017

Factuurnummer: 16700788

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD907002016788	€ 935,00

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

Van: [REDACTED]
Verzonden: maandag 23 januari 2017 9:27
Aan: 'Info-zbo'
CC: [REDACTED]
Onderwerp: RE: aanvraag AVD907002016788
Bijlagen: bijlage_-_beschrijving_dierproeven_1.0_Modelv8.doc; format_nts-nieuwv8.doc
Categorieën: Dossier: [REDACTED]

Ls,
Hartelijk dank voor de mogelijkheid tot het wijzigen, bijgevoegd de wijzigingen in twee documenten. Indien ik de ftp moet gebruiken verzoek ik u mij de inloggegevens ook te sturen, dit ivm een it crash on site bij ons,

Met vriendelijke groet/Best regards,
[REDACTED]



[REDACTED]
[REDACTED]
InnoSer Nederland BV / InnoSer Laboratories BV
Runderweg 6 Zernikedreef 9
8219 PK 2333 CK
Lelystad Leiden

Van: Info-zbo [<mailto:info@zbo-ccd.nl>]
Verzonden: dinsdag 17 januari 2017 10:52
Aan: [REDACTED]
CC: [REDACTED]
Onderwerp: aanvraag AVD907002016788

Geachte [REDACTED]

U heeft bij de CCD een aanvraag tot projectvergunning ingediend, bij de behandeling hiervan willen wij u vragen een aantal punten te verduidelijken. Het betreft uw aanvraag :"

Onderzoek naar de biodistributie van nieuwe, op oligonucleotiden gebaseerde, teststoffen voor de behandeling van zeer ernstige en zeldzame monogene aandoeningen".

Met aanvraagnummer AVD907002016788.

In de NTS wordt bij 3.1 voor het algemene publiek niet duidelijk waar deze projectaanvraag om gaat en wat de aanleiding is om dit project uit te voeren, en u gebruikt te technische taal en begrippen. Kunt u punt 3.1 herschrijven zodat het begrijpelijker wordt waarom dit project wordt uitgevoerd?

Onder punt 3.3 staat een tegenstrijdigheid voor wat betreft het aantal dieren. In de eerste zin beschrijft u een aantal van 1600 en in de laatste zin beschrijft u 800 dieren. Dit aantal komt ook overeen met het aantal dieren in de bijlage dierproeven.

In de bijlage dierproeven beschrijft u onder B. de dieren, dat u WT muizen gebruikt waar geen experiment mee gedaan kan worden. Wij nemen aan dat u hier WT muizen bedoeld die 'over' zijn uit de fok van een transgene lijn? Kunt u dit punt aanpassen in de bijlage dierproeven?

Uw aanvraag wordt in de CCD vergadering van 27 januari besproken. Kunt u de aanpassingen uiterlijk donderdag 26 januari aan ons toesturen?

Met vriendelijke groet, [REDACTED]

Centrale Commissie Dierproeven
www.centralecommissiedierproeven.nl

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

T: 0900 2800028
E: info@zbo-ccd.nl (let op: nieuw emailadres!)

[Click here to report this message as SPAM](#)

-- Powered by ATERA Networks --



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Innoser Laboratories BV

Zernikedreef 9
2333 CK LEIDEN
|||||

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

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD907002016788
Bijlagen
1

03 FEB. 2017

Datum 2 februari 2017
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 16 december 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Onderzoek naar de biodistributie van nieuwe, op oligonucleotiden gebaseerde, teststoffen voor de behandeling van zeer ernstige en zeldzame monogene aandoeningen." met aanvraagnummer AVD907002016788. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 23 januari 2017 heeft u uw aanvraag aangevuld. Op ons verzoek heeft u de NTS aangepast en meer begrijpelijk herschreven voor het algemene publiek. Daarnaast heeft u het aantal dieren in de NTS aangepast. Bijlage 3.4.4.1 is aangepast wat betreft de herkomst van de dieren.

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.

Met het oog op artikel 10a, lid 1, zijn er algemene voorwaarden gesteld.

U kunt met uw project "Onderzoek naar de biodistributie van nieuwe, op oligonucleotiden gebaseerde, teststoffen voor de behandeling van zeer ernstige en zeldzame monogene aandoeningen." starten. De vergunning wordt afgegeven van 3 februari 2017 tot en met 31 januari 2022.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC Rug gevoegd. Dit advies is opgesteld op 13 december 2016. Bij de

beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Dit advies van de commissie nemen wij over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

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

Datum:
2 februari 2017
Aanvraagnummer:
AVD907002016788

Bezwaar

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

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

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

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een 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.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze: [REDACTED]

Datum:
2 februari 2017
Aanvraagnummer:
AVD907002016788

Ir. G. de Peuter
Algemeen Secretaris

Bijlagen:

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



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Innoser Laboratories BV

Adres: Zernikedreef 9

Postcode en plaats: 2333 CK LEIDEN

Deelnemersnummer: 90700

deze projectvergunning voor het tijdvak 3 februari 2017 tot en met 31 januari 2022, voor het project "Onderzoek naar de biodistributie van nieuwe, op oligonucleotiden gebaseerde, teststoffen voor de behandeling van zeer ernstige en zeldzame monogene aandoeningen." met aanvraagnummer AVD907002016788, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC Rug. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]. Voor de uitvoering van het project is Toezichthouder WOD en dierenarts verantwoordelijk.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 16 december 2016
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 16 december 2016;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per brief op 23 januari 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 13 december 2016, ontvangen op 16 december 2016.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 23 januari 2017

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1 Biodistributie van nieuwe oligonucleotiden in de muis.				
	Muizen (<i>Mus musculus</i>) /	800	100% Matig	

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 van de Wet op de dierproeven zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

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

In artikel 10, lid 1 sub a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen

Aanvraagnummer:
AVD907002016788

worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in afstemming met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.



Aanvraagnummer:

AVD907002016788

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

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

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

Verzorging

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

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

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

Pijnbestrijding en verdoving

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

Aanvraagnummer:
AVD907002016788

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

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