



2014

Proefdierkundig  
jaarsverslag



BPRC

## Inleiding

Onderzoeksonderwerpen binnen het BPRC	4
Traject voorafgaand aan een dierproef	4
Dierexperimentencommissie	5
Aantal DEC-aanvragen	6

## Dierexperimenteel onderzoek

<i>Huisvesting en verzorging</i>	8
<i>Diertraining en welzijn</i>	8
<i>Diergeneeskunde</i>	8
Details dierexperimenteel onderzoek	9
<i>Immunobiologie</i>	10
<i>Virologie</i>	11
<i>Parasitologie</i>	13
<i>Vergelijkende Genetica en Verijning</i>	16
<i>Alternatieven</i>	17
Openheid en communicatie	19
<b><i>Uitgelicht: Workshop Alternatieve methoden voor het gebruik van apen in biomedisch onderzoek</i></b>	20



## Inleiding

Het Biomedical Primate Research Centre (BPRC) is een wetenschappelijk instituut dat zowel verkennend als toegepast biomedisch onderzoek verricht in het belang van de volksgezondheid. Daarnaast levert het BPRC een actieve bijdrage aan de ontwikkeling van alternatieven voor dierproeven.

Het doel van het verkennend onderzoek is het verkrijgen van kennis over het ontstaan en het verloop van chronische- en infectieziektes. Het doel van het toegepast onderzoek is om een bijdrage te leveren aan de ontwikkeling van nieuwe medicijnen of behandelingen voor ernstige ziektes. Dit zijn langdurige processen die helaas -nog niet mogelijk zijn zonder dierproeven. Zij gaan dan ook vergezeld van maatschappelijke zorg over het welzijn van de proefdieren. Naast onderzoek waarbij proefdieren ingezet worden, wordt er in het BPRC ook onderzoek gedaan om alternatieven voor het gebruik van proefdieren te ontwikkelen. Het BPRC heeft een actief en uitgebreid programma voor het ontwikkelen van alternatieven volgens de principes van de drie **V**'s die staan voor **V**ervanging, **V**ermindering en **V**erfijning. Onderzoek naar het ontwikkelen van alternatieven is deels ondergebracht in een specifieke, zelfstandige onderzoeksgroep. Daarnaast wordt instituutsbreed in alle andere onderzoeksafdelingen het ontwikkelen en het gebruik van alternatieven actief ondersteund en gestimuleerd.

Het BPRC onderkent de verantwoordelijkheid die de inzet van dieren ten behoeve van de menselijke gezondheid met zich meebrengt. In het kader van maatschappelijk verantwoord ondernemen (MVO) streven wij ernaar om mede middels dit proefdierkundig jaarverslag het publiek te informeren en openheid te verschaffen over de projecten waarvoor dieren worden ingezet (Code Openheid Dierproeven), de rol van de dierexperimentencommissie, de aantallen dieren die ingezet zijn in 2014, alsmede over de ontwikkelingen op het gebied van alternatieven voor dierproeven.

# Onderzoeksonderwerpen binnen het BPRC

De gezondheid van mensen in grote delen van de wereld is de afgelopen 100 jaar aanzienlijk verbeterd. Deze verbeteringen zijn deels het gevolg van toegenomen hygiënische omstandigheden maar ook van geneesmiddelen en vaccins die in deze periode, vaak mede dankzij proefdieronderzoek, zijn ontwikkeld. Om ziektes die nog niet voorkomen of genezen kunnen worden succesvol te bestrijden is uitbreiding van onze kennis noodzakelijk. Biomedisch onderzoek vormt de basis voor de ontwikkeling van nieuwe en veilige medicijnen en therapieën.

Het BPRC is het grootste niet-commerciële primatencentrum van Europa en speelt een centrale rol bij het biomedisch onderzoek naar ernstige menselijke ziektes. Het BPRC verricht geen onderzoek voor de ontwikkeling van cosmetica (bij wet verboden), recreatieve drugs of wapens. Bij het BPRC wordt wel onderzoek verricht met als doel om ziektes zoals AIDS, griep, West Nile Virus, malaria, tuberculose, multiple sclerose, reumatoïde artritis en de ziektes van Parkinson en Alzheimer te bestrijden. Tevens wordt er gewerkt aan medische vraagstukken zoals transplantaatafstoting. De Nederlandse wet bepaalt dat hiervoor alleen apen ingezet mogen worden als er geen geschikte alternatieven zijn. Naast de incorporatie van de drie V-principes (vervanging, vermindering en verfijning) bij al het onderzoek waarbij proefdieren ingezet worden, wordt er in dit kenniscentrum in een aparte, zelfstandige Unit onderzoek gedaan om alternatieven voor het gebruik van proefdieren te ontwikkelen.

## Traject voorafgaand aan een dierproef

Voordat een dierproef uitgevoerd kan worden, is er al een lange weg afgelegd. De eerste selectie van mogelijke kandidaat-geneesmiddelen vindt altijd plaats in het laboratorium door middel van *in vitro* technologie. Hierbij worden proeven in het lab gedaan (bijv. weefselkweek technieken) en worden geen proefdieren gebruikt. Hoe beter deze technologie de situatie in levende mensen of dieren (*in vivo*) benadert, des te beter de voorspellende waarde voor de eventuele werking in de mens. Na een *in vitro* testfase kunnen mogelijk interessante ideeën of moleculen in aanmerking komen voor *in vivo* testen. Zulke ideeën of moleculen kunnen binnen het BPRC, maar ook binnen andere onderzoekscentra, universiteiten of kenniscentra ontwikkeld zijn. Belangrijk is dat, ondanks al het verrichte voorwerk, er in geen geval een dierproef gestart kan worden zonder dat daarvoor een positief advies van de dierexperimentencommissie is afgegeven.

## Dierexperimentencommissie



De Wet op de Dierproeven schrijft voor dat een experiment waarbij proefdieren ingezet worden pas mag worden uitgevoerd nadat de dierexperimentencommissie (DEC) hierover een positief advies heeft uitgebracht aan de vergunninghouder van de instelling waar de proef wordt uitgevoerd. De DEC bestaat uit deskundigen op het gebied van dierproeven, alternatieven voor dierproeven, dierenbescherming en dierenwelzijn en toegepaste (bio-)ethiek alsmede uit niet-deskundigen die uit verschillende geledingen van de samenleving afkomstig zijn. De voorzitter van de DEC is géén BPRC werknemer. Verder is er krachtens artikel 14 van de wet op dierproeven, een proefdierdeskundige aangesteld bij het BPRC. Deze is permanent adviseur van de DEC en neemt zonder stemrecht aan de DEC vergaderingen deel. Om de onafhankelijkheid van de proefdierdeskundige te waarborgen heeft het BPRC er voor gekozen om voor deze positie een externe kandidaat aan te stellen.

De DEC heeft de taak om het te verwachten ongerief (zie kader) van het proefdier af te wegen tegen het wetenschappelijk belang van het experiment. Elk afzonderlijk experiment wordt in een plenaire vergadering met alle DEC leden uitgebreid besproken. Vaak oordeelt de commissie dat aanvullende informatie nodig is alvorens tot een beslissing te komen.

De DEC heeft de taak om het te verwachten ongerief (zie kader) van het proefdier af te wegen tegen het wetenschappelijk belang van het experiment. Elk afzonderlijk experiment wordt in een plenaire vergadering met alle DEC leden uitgebreid besproken. Vaak oordeelt de commissie dat aanvullende informatie nodig is alvorens tot een beslissing te komen.

Een belangrijk onderdeel van de ethische afweging die de DEC maakt is de taak om nauwgezet te toetsen op de mogelijkheid van het gebruik van alternatieve methoden. Als de beoogde antwoorden ook zonder inzet van proefdieren (vervanging), of met de inzet van minder proefdieren (vermindering), of met een andere proefopzet waarbij de proefdieren minder ongerief ondervinden (verfijning), verkregen zouden kunnen worden dan zal de DEC negatief adviseren en wordt de voorgenomen dierproef niet uitgevoerd.

Ongerief is gebrek aan welzijn in de ruimste zin van het woord. Hierbij kan gedacht worden aan pijn en ziekte, maar ook aan stress of de afwezigheid van natuurlijke huisvesting. Ondanks dat ongerief dus een zeer breed begrip is, wordt de hoeveelheid ongerief bijgehouden met behulp van een scoresysteem. In de oude wetgeving liep dit scoresysteem van 1 tot 6. In de in 2014 herziene wetgeving wordt het ongerief gekarakteriseerd als terminaal, mild, matig en ernstig.

# Aantal DEC-aanvragen

In 2014 zijn er aan de DEC van het BPRC in totaal 22 nieuwe aanvragen ter advies voorgelegd.

In 8 gevallen ging het om een meerjarige onderzoeksaanvraag. Dit betreft een type projectvoorstel waarbij toestemming wordt gevraagd voor het uitvoeren van een wetenschappelijk onderzoekstraject over een langere periode waarbij in een bestaand, goed omschreven, relevant diermodelonderzoek gedaan wordt naar preventie, ziekteverloop of behandeling van bepaalde ziektes. Positief advies kan worden afgegeven voor een periode van maximaal 5 jaar onder voorwaarde dat voor elk afzonderlijke dierexperiment een gedetailleerd sub-protocol wordt ingediend bij de vergunninghouder, met daarin specifieke informatie over exacte opzet en uitvoering van het experiment. De vergunninghouder vraagt dan nader advies aan de DEC over de uitvoering van het specifieke experiment. Alle aanvragen kregen uiteindelijk een positief advies na indienen van extra informatie door de onderzoeker.

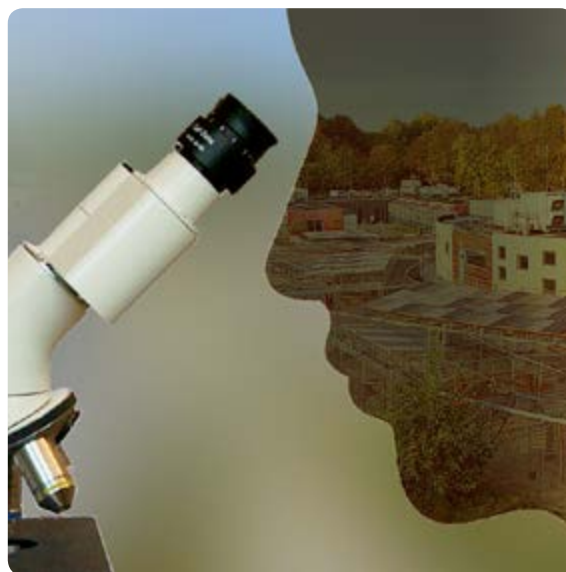
Bij 14 aanvragen betrof het enkelvoudige experimenten met een specifiek omschreven maximale projectduur. In alle gevallen moest er eerst extra informatie worden gegeven voordat een advies kon worden uitgebracht. Uiteindelijk kregen 12 aanvragen een positief advies, terwijl bij 2 aanvragen geen advies werd gegeven. Een aanvraag waarvoor reeds een positief advies was gegeven, is door de onderzoeker teruggetrokken.

Naast deze aanvragen werden er ook verzoeken ingediend tot aanpassingen in al lopende experimenten. Omdat er tijdens experimenten omstandigheden kunnen veranderen, is het soms noodzakelijk om de onderzoeksplannen tijdens de uitvoering van het experiment aan te passen. Het betreft veelal kleine wijzigingen die geen extra ongerief voor de dieren met zich meebrengen of soms zelfs gericht zijn op het verminderen van het ongerief. Het kan ook zijn dat de onderzoeker dient te anticiperen op de uitkomsten in de loop van een onderzoek. Ook zulke aanpassingen dienen door de DEC beoordeeld te worden. In totaal werd er in 2014 40 keer een positief advies uitgebracht over aanpassingen. Eén aanvraag is nog in behandeling.

In 2014 zijn in totaal 11 nieuwe sub-protocollen, behorend bij eerder van een positief advies voorziene meerjarige onderzoeksaanvragen, ter advisering aan de DEC voorgelegd. In 2014 is 11 keer een wijziging in één van de lopende sub-protocollen ter beoordeling ingediend bij de commissie. Het betrof veelal kleine wijzigingen die weinig of geen additioneel ongerief met zich mee brachten. In deze gevallen werd direct een positief advies gegeven. Vier keer werd eerst om aanvullende informatie gevraagd voordat er advies werd uitgebracht.

Betreffende 7 protocollen is een rapport ingediend. Dit betrof in 1 geval een voortgangsreportage en in de overige gevallen een beoordeling achteraf van een afgerond protocol. Hierbij werd aangegeven wat de belangrijkste uitkomsten van het project waren, of de doeleinden van het project waren bereikt, het aantal gebruikte dieren en het ondergane ongerief en hoe de bevindingen van dit project kunnen bijdragen aan verdere verfijning, vermindering en vervanging.

De sterke toename in het aantal nieuwe aanvragen en wijzigingen van lopende aanvragen kan voor een deel worden toegeschreven aan proactief handelen van de onderzoekers vanwege onduidelijkheden over het in werking treden van de nieuwe Wet op de Dierproeven. Hierbij is door de DEC steeds de gebruikelijke zorgvuldigheid in acht genomen en is uiteindelijk bij twee aanvragen besloten om geen positief advies af te geven. Het grote aantal positieve adviezen hangt samen met de goede kwaliteit van de onderzoeks aanvragen. Onderzoekers



dienen voorgenomen experimenten aan de hand van een uitgebreid formulier zeer nauwkeurig te beschrijven, alsmede de mogelijkheden en onmogelijkheden tot het gebruik van alternatieven te verkennen en te onderbouwen. Deze experimenten zijn daarvoor vaak al op wetenschappelijke kwaliteit beoordeeld en goedgekeurd door collega's in het onderzoeksveld. Vervolgens wordt de aanvraag door de proefdierdeskundige en door een door het BPRC ingestelde interne leescommissie op volledigheid nagekeken voordat het uiteindelijk voor advies wordt ingediend bij de DEC. De kans dat hier dan nog ondoordachte of ethisch slecht afgewogen voorstellen tussen zitten is daarmee klein geworden.



# Dierexperimenteel onderzoek

## *Huisvesting en verzorging*

Het BPRC herbergt drie soorten apen: resusapen (*Macaca mullata*), Java-apen (*Macaca fascicularis*) en marmoset-apen (*Callithrix jacchus*). Resus- en Java-apen zijn makaken die veel voorkomend zijn in Azië, marmoset-aapjes (ook bekend als witoorpenseelaapjes) komen voor in Zuid-Amerika.

In de fokkolonies van het BPRC zijn in 2014 147 resusapen geboren, 29 Java-apen en 30 marmosets. De eigen fokkolonies zijn er op gericht om zelfvoorzienend te zijn voor het wetenschappelijk programma van het BPRC. De Java-apen kolonie wordt grotendeels beheerd voor het wetenschappelijk onderzoek naar gedrag in samenwerking met de afdeling Animale Ecologie van de Universiteit van Utrecht.

Het optimaal verzorgen van deze grote groepen apen vereist specifieke expertise. De dieren worden verzorgd door 22 gediplomeerde dierverzorgers. Zij hebben een meerjarige opleiding gevolgd en een intern opleidingstraject voltooid om de specifieke kenmerken van apengedrag en verzorging te leren. In overleg met de genetici van het BPRC is er een kolonimanager (gedragsdeskundige) die verantwoordelijk is voor de samenstelling van de fokgroepen en het voorkomen van inteelt.

## *Diertraining en welzijn*

Het BPRC houdt zich al een aantal jaren bezig met diertraining gericht op het zo veel mogelijk vrijwillig mee laten werken van de dieren aan een aantal handelingen. De diertrainers van het BPRC ontwikkelen methoden om dit zo optimaal mogelijk te laten verlopen. Dit doen zij veelal in internationaal verband. De kennis die ze ontwikkelen wordt derhalve ook gedeeld en uitgedragen naar andere instituten, o.a. door het geven van lezingen en workshops.

## *Diergeneeskunde*

De groep diergeneeskundigen (3 dierenartsen, 1 veterinaire patholoog, en 5 ondersteunende medewerkers) is verantwoordelijk voor de controle op de gezondheid van alle dieren, zowel in de fok als in studies. Daar waar mogelijk werken ze aan verfijning van verschillende methoden, zoals verbetering van de verdoving en pijnstilling die gegeven wordt tijdens operaties. Hier wordt uitgebreid onderzoek naar gedaan. Daarnaast loopt er een project om vroegtijdig diabetes op te kunnen sporen. Diabetes komt van nature voor bij Java-apen en het doel is om met behulp betere diagnostiek en gezondheidscontroles zo vroeg mogelijk in te kunnen grijpen.



## Details dierexperimenteel onderzoek

In totaal werden er in 2014 22 studies bij het BPRC verricht waarbij in totaal 216 proefdieren ingezet zijn. Meer specifiek zijn er 139 resusapen ingezet in 13 studies en 77 marmoset-apen in 9 studies.

Bij het BPRC worden experimenten verricht die de volgende doelen dienen: toegepast translationeel onderzoek (preklinisch onderzoek zoals de ontwikkeling van vaccins en geneesmiddelen) en fundamenteel wetenschappelijk onderzoek (met als doel een antwoord te krijgen op wetenschappelijke vragen; hier wordt bijvoorbeeld ook het onderzoek naar het gedrag van apen onder gecategoriseerd). Tabel 1 geeft weer hoeveel dieren voor de verschillende onderzoeksdoelen zijn gebruikt.

Doelen	Resusapen	Marmoset-apen
Toegepast translationeel onderzoek	130	74
Fundamenteel wetenschappelijk onderzoek	9	3

Tabel 1. Aantallen ingezette dieren per doel.

Een belangrijke factor voor het advies dat een DEC geeft, is het te verwachten ongerief voor de ingezette proefdieren (zie: *Dierexperimentencommissie*). Daarnaast houdt de DEC bij het bepalen van het advies ook rekening met de duur van het ongerief. Beiden zijn afhankelijk van de aard van het experiment. Hoe hoger en langer het te verwachten ongerief, des te zwaarwegender moeten de wetenschappelijke en volksgezondheidsbelangen zijn om het experiment te mogen uitvoeren. Ondanks dat ongerief moeilijk is te kwantificeren blijken de volgende categorieën in de praktijk goed bruikbaar:

1, gering ongerief (zoals een enkele bloedafname, maar ook onnatuurlijke huisvesting); 2, gering tot matig ongerief; 3, matig ongerief (zoals frequente bloedafnames en vaccinatie); 4, matig tot ernstig ongerief; 5, ernstig ongerief (zoals ziekte verschijnselen van AIDS, tuberculose, artritis); 6, zeer ernstig ongerief. Onderzoek waarbij zeer ernstig ongerief vooraf wordt ingeschat wordt niet geaccepteerd binnen het BPRC. In tabel 2 is per diersoort het ontvangen ongerief gespecificeerd.

Ontvangen ongerief	Resusapen	Marmoset-apen
Gering	0	0
Gering/matig	25	6
Matig	56	41
Matig/ernstig	58	30
Ernstig	0	0
Zeer ernstig	0	0

Tabel 2. Ingeschat ongerief ondergaan door ingezette dieren.

## Dierexperimenteel onderzoek

Binnen de afdeling **Immunobiologie** wordt gewerkt aan de ziekten *multiple sclerose (MS)*, *reumatoïde artritis (reuma)* en de *ziekten van Parkinson en Alzheimer*.

MS en reuma worden veroorzaakt door een ongewenste reactie van het immuunsysteem tegen het eigen lichaam (auto-immuunziekten). In MS is de isolatielaag van myeline rond de zenuwbanen in de hersenen en het ruggenmerg het doelwit van de immuunreactie. Bij reuma is de reactie gericht tegen het kraakbeen in de gewrichten. De immuunreacties veroorzaken ontstekingen en beschadigen de doelwitorganen.

De belangrijkste rechtvaardiging voor het gebruik van apen in het onderzoek naar MS is de grote verwantschap met de mens. Dit is niet alleen van belang voor het onderzoek naar de veiligheid en werkzaamheid van nieuwe geneesmiddelen zoals monoclonale antistoffen, die door hun hoge specificiteit niet werkzaam zijn in lagere diersoorten als ratten of muizen. Ook is de verwantschap van belang voor een beter begrip van het ontstaan en het beloop van de ziekte. MS is een auto-immuunziekte. Door een fout in de regulatie van het immuunsysteem worden het eigen brein en ruggenmerg aangevallen door immuuncellen, die ontstekingen en schade veroorzaken. Volgens een breed aangehangen concept wordt in personen met een genetische gevoeligheid voor MS het immuunsysteem geactiveerd door infectie met het Epstein Barr Virus (EBV), het virus dat bij jongeren de ziekte van Pfeiffer veroorzaakt. Echter, het concept is vooral gebaseerd op associatie studies, experimenteel bewijs ontbreekt vooralsnog.

Op basis van uitgebreid onderzoek in het marmoset-aapje, hebben wij een complementair concept voorgesteld, namelijk dat infecties met herpesvirussen, zoals EBV en cytomegalovirus, niet de oorzaak zijn van MS maar het immuunsysteem hyperreactief maken. In dit geval maken wij gebruik van het feit dat de marmosets evenals de mens van nature met deze virussen besmet zijn. Dit is niet het geval in de veelvuldig voor MS onderzoek gebruikte muizen en ratten. Wij zijn erin geslaagd een populatie geheugen T-lymfocyten te identificeren, die enerzijds door een eiwit van het cytomegalovirus kunnen worden geactiveerd en anderzijds de voor MS karakteristieke schade aan brein en ruggenmerg veroorzaken. Ook hebben we aan kunnen tonen dat B-lymfocyten geïnfecteerd met EBV een cruciale rol spelen in de activatie van deze T-lymfocyten.

Een deel van ons huidige MS onderzoek richt op de vraag welke veranderingen infectie met EBV in B-lymfocyten teweeg brengen, zodat zij deze cruciale rol verkrijgen. Een ander deel richt zich op de vraag wat de oorzaak is van de primaire schade in het brein en ruggenmerg waardoor de myeline eiwitten vrijkomen, waarop het immuunsysteem van de MS patiënt over-reageert. Er zijn diverse ziektes waarbij beschadiging aan myeline voorkomt, maar waarbij dit niet leidt tot de chronische auto-immuniteit zoals bij MS patiënten. In samenwerking met onderzoekers van het VU medisch centrum hebben we aangetoond dat vernietiging van myeline in de context van een ontstekingsreactie, een situatie die typisch is voor MS, tot auto-immuniteit kan leiden. De vraag waarom het myeline beschadigd wordt blijft echter vooralsnog onbeantwoord.

Bij de afdeling Immunobiologie wordt ook onderzoek gedaan naar *reumatoïde artritis (RA)*. Daarbij worden modellen van artritis in apen ingezet om informatie te krijgen over de veiligheid en de effectiviteit van nieuwe medicijnen. Door de specificiteit van deze medicijnen voor de mens kunnen deze alleen in een nauw verwante diersoort worden onderzocht. Om te kijken of onze modellen van artritis overeenkomen met de ziekte bij de mens wordt een groep in een experiment gebruikt om een middel te testen dat ook bij de mens gebruikt wordt. Dit proces heet “validatie van het model” wat zoveel betekent als “de voorspellende waarde bepalen van het artritis model voor verschijnselen die ook bij de mens op kunnen treden”. Dit is belangrijk om op basis van resultaten in het diermodel voorspellingen te kunnen doen over de veiligheid maar vooral ook over de werkzaamheid van een nieuw medicijn. Over de afgelopen jaren hebben wij het artritis model in de resusapen voor 2 belangrijke medicijnen - RoActemra® en Orencia® - “gevalideerd”. Net als bij de mens bleken deze middelen in staat om verschijnselen van artritis te onderdrukken dan wel te verminderen. Ook bleken stoffen (moleculen) die tijdens een ontsteking bij de mens gemeten worden in dit apen model gevoelig te zijn voor de behandeling. We hopen zo met deze apen modellen een belangrijke bijdrage te leveren aan de ontwikkeling van betere en veiliger medicijnen.

Binnen de afdeling **Virologie** wordt onderzoek gedaan naar verschillende virale infecties en de ontwikkeling van geneesmiddelen en vaccins. Virale infecties veroorzaken vaak ernstige gezondheidsproblemen. Recentelijk hebben we infectiemodellen opgezet voor *influenzavirus (Flu)*, de veroorzaker van griep, en *West Nile Virus (WNV)*. We hebben in 2013 in drie verschillende apensoorten (resus-, Java- en marmoset- apen) de gevoeligheid voor en het ziekte verloop van Flu infecties bestudeerd en bepaald welke soort het best de humane situatie nabootst. Op basis hiervan hebben we een apensoort kunnen selecteren welke het meest geschikt is voor (toekomstige) vaccinstudies tegen influenza. Ook voor WNV hebben we gekeken welke diersoort het meest geschikt is om als model te gebruiken voor WNV vaccinstudies. Op basis van deze studies hebben we in 2014 met succes potentiële vaccins tegen influenza en WNV kunnen testen. Bij al de bovenstaande studies hebben we gebruik gemaakt van transponders. Dit zijn kleine meetapparaatjes die bij een dier onderhuids kunnen worden aangebracht en in de tijd zeer regelmatig bijvoorbeeld de temperatuur kunnen meten. Hierdoor hoeft een dier niet meer verdoofd te worden om de temperatuur te bepalen tijdens een experiment.



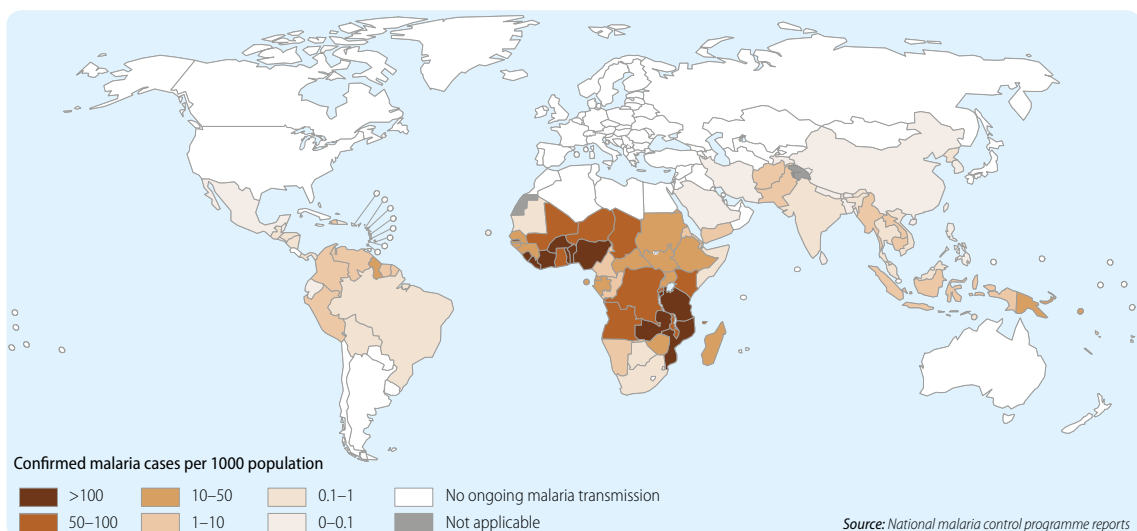
Bovendien wordt op deze manier een beter inzicht verkregen in het verloop van diverse ziekteprocessen en kan nauwkeuriger het effect van een nieuw medicijn of een vaccin worden vastgesteld.

In 2003 heeft de Nederlandse overheid besloten dat biomedisch onderzoek op chimpansees niet langer was toegestaan. Dit had belangrijke consequenties voor het hepatitis C virus (HCV) gerelateerde onderzoek. Met wereldwijd naar schatting 170 miljoen chronische HCV-dragers is dit virus een groot socio-economisch probleem en legt het een enorme druk op het gezondheidszorgbudget. Tot voor kort waren er geen medicijnen beschikbaar om HCV te behandelen maar sinds een paar jaar is een aantal direct-acting antivirale middelen goedgekeurd door de autoriteiten. Deze middelen hebben een verbeterde werkzaamheid en minder bijwerkingen, ze zijn echter ook erg duur en daardoor niet voor iedereen beschikbaar. Het is daarom van groot belang dat de ontwikkeling van een vaccin door blijft gaan zodat het aantal nieuwe besmettingen in de toekomst ingeperkt kan worden. Met het verdwijnen van de chimpansee als proefdier, is ook het enige beschikbare model voor HCV-vaccin onderzoek verdwenen. Van 1980 tot 2004 zijn chimpansees bij het BPRC ingezet voor HCV-onderzoek en tijdens deze periode is een uitgebreide bio-bank samengesteld. Plasma, serum en witte bloedcellen uit verschillende fasen van de infectie zijn verzameld en opgeslagen. In het kader van *meer kennis uit minder dieren* wordt nog steeds gebruik gemaakt van deze unieke sample collectie. Afgelopen jaar is onderzoek gedaan naar natural killer (NK)-cellen tijdens HCV-infectie. NK-cellen zijn cellen van het aangeboren immuunsysteem en spelen een belangrijke rol tijdens virale infecties. Aan de ene kant zijn NK-cellen in staat om direct target (doelwit) cellen te doden, en aan de andere kant hebben NK-cellen immuunregulerende functies waarbij ze bepaalde adaptieve immuun responsen kunnen beïnvloeden. Van mensen is bekend dat NK-cellen subtiele veranderingen doormaken tijdens een HCV-infectie maar hoe het precies in elkaar zit is nog niet duidelijk. Door de veranderingen bij chimpansees beter in kaart te brengen kan dit meer duidelijkheid geven over deze cellen bij mensen.

Daarnaast is er het afgelopen jaar bijzonder veel werk verricht op het gebied van immuun activatie en lever fibrose. In gezonde mensen lekken er kleine fragmenten van bacteriën door de darmwand heen en komen zo in het bloed terecht. Dit is een normale situatie, en zelfs van belang voor een goedwerkend immuun systeem. Bij veel infectieziekten is deze balans verstoord. In HIV-patiënten zijn hogere concentraties van bacteriële producten gevonden dan in het bloed van gezonde mensen. Dit blijkt te komen doordat HIV specifieke cellen in de darmwand aanvalt waardoor er meer translocatie (lekkage) is. Tijdens *in vitro* experimenten hebben we ook bewaard serum van eerder met HIV-geïnfecteerde chimpansees onderzocht. En net als bij HIV-geïnfecteerde mensen, hebben we in chimpansees aanwijzingen gevonden voor een verhoogde permeabiliteit (doorlaatbaarheid) van de darmwand.

Via onze diagnostische service unit komen er elk jaar aanvragen binnen (uit binnen- en buitenland) voor virus bepalingen in bloedmonsters verkregen uit apen die gehuisvest zijn in dierentuinen, opvangcentra en onderzoekscentra. Onze expertise op dit gebied wordt wereldwijd erkend, leidend tot steeds meer diagnostische bepalingen die van belang (kunnen) zijn voor de gezondheid van de apen.

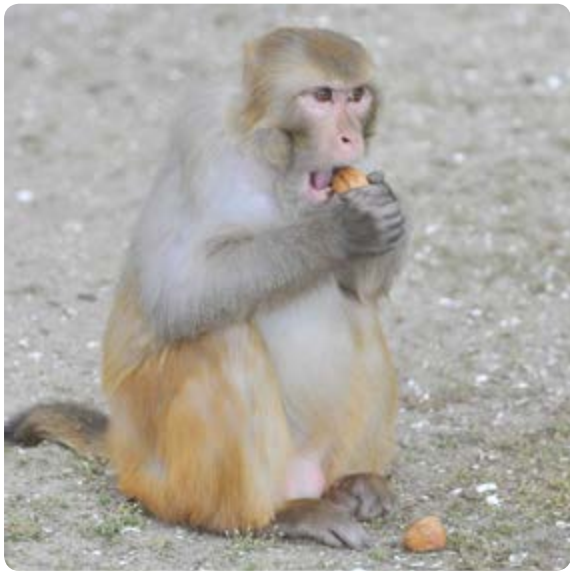
Binnen de afdeling **Parasitologie** wordt gewerkt aan *malaria* en *tuberculose*. Malaria is wereldwijd nog steeds één van de belangrijkste infectieziekten. Een goed werkend vaccin is nog altijd niet beschikbaar en de malariaparasiet, die de ziekte veroorzaakt, wordt steeds minder gevoelig voor bestaande geneesmiddelen. Binnen de afdeling parasitologie werken we zowel aan malariavaccins als aan geneesmiddelen. Wij gebruiken daarbij resusapen omdat die besmet kunnen worden met malariaparasieten die ook mensen kunnen besmetten. De ziekte die dan ontstaat lijkt heel erg op malaria bij de mens en ook de afweer reactie van de apen tegen de parasiet is zeer vergelijkbaar met wat er in mensen gebeurt.



In ons geneesmiddelen onderzoek zijn we nu vooral gericht op slapende parasieten in de lever. Dit komt voor bij een kleine groep van malariaparasieten, die alleen mensen en apen besmetten. Experimentele studies kunnen dus alleen in apen uitgevoerd worden. In het recente verleden hebben wij een reageerbuisweekmodel ontwikkeld voor deze slapende parasieten. Hiermee kunnen we mogelijk nieuwe geneesmiddelen die slapende stadia doden onderzoeken, zonder dat we daar apen voor hoeven te gebruiken. We zijn nu in het stadium aangekomen waarbij we zo'n mogelijk nieuw geneesmiddel kunnen testen in de aap, om te kijken of het ook echt werkt. Dit is een voorbereidende stap, voordat verder onderzoek in mensen kan plaatsvinden.

## Dierexperimenteel onderzoek

In 2014 hebben we zo'n test uitgevoerd, nadat we eerst in ons kweekstelsel een selectie hebben gemaakt van de beste stof om te testen. De resusapen in het experiment werden besmet met parasieten die we uit malariamuggen hebben gezuiverd. Het experimentele middel werd in 1 groep apen direct na besmetting toegediend om te kijken of besmetting voorkomen kan worden. In een andere groep apen werd het middel toegediend op het moment dat de parasieten die niet slapen uit de lever in het bloed zijn gekomen. In de lever zijn dan de slapende stadia achtergebleven en als de apen geen nieuwe parasieten meer in het bloed krijgen op de tijdstippen dat controle dieren dat wel krijgen, zijn die slapende parasieten allemaal gedood. Aan het eind



van de studie worden alle apen die parasieten in hun bloed hebben genezen met standaard anti-malaria middelen, en keren alle apen terug naar de kolonie. Het controleren op bloedstadiumparasieten, gebeurt met behulp van een klein beetje bloed dat verkregen wordt door een naaldprikje in de dij van de aap. Omdat er relatief vaak gekeken moet worden, zijn de apen getraind om dit geheel vrijwillig toe te laten, waarna ze beloond worden met iets lekkers. Op deze manier kan dit onderzoek zonder stress voor de dieren uitgevoerd worden.

Een infectie met de tuberculose (TB) veroorzakende bacterie (*Mycobacterium tuberculosis*) treft jaarlijks vele miljoenen mensen en is een belangrijke oorzaak van ziekte en sterfte, onder andere ook onder HIV-geïnficeerden. Waar doorgaans behandeling met antibiotica afdoende is om een bacteriële infectie het hoofd te bieden, is deze therapie voor TB-notoir moeizaam. Antibiotica werken slecht en moeten maanden lang worden ingenomen. *Mycobacterium tuberculosis* stammen die resistent of zelfs extreem resistent zijn tegen deze middelen nemen hand over hand toe. Er is sinds 1921 een vaccin genaamd BCG. Hiermee wordt wereldwijd ca. 80% van alle nieuwgeborenen gevaccineerd, maar BCG werkt niet even goed in alle bevolkingsgroepen en verhindert niet dat er dagelijks nog ongeveer 4000 mensen aan TB overlijden. De interactie tussen de tuberculose bacterie en zijn gastheer, de mens, is zeer complex en veelal verschuilt de bacterie zich voor het afweersysteem. Daardoor is naar schatting circa éénderde van de wereldbevolking drager van een zogenoemde latente (verborgen) infectie. Diagnostiek om mensen met een verhoogd risico op (re)activatie van ziekte op te sporen, bestaat niet. Voor een optimale bestrijding van TB zijn zowel nieuwe diagnostische middelen, betere antibiotica en effectievere vaccins nodig.

Vele aspecten van het ziekteproces en met name de vroegste manifestaties van TB-infectie bij de mens zijn onbekend. Bovendien is er nog steeds geen goed inzicht in de afloop van cellulaire en moleculaire reacties die effectieve bescherming tegen TB bewerkstelligen. Daardoor is de ontwikkeling van nieuwe therapieën, zowel antibiotica als vaccins, een zeer moeizaam, riskant en kostbaar proces van uitproberen. Echter, experimentele infectie van mensen om de werkzaamheid van therapie te testen, is voornamelijk uit den boze met deze potentieel dodelijke infectieziekte. Daarom zijn preklinische modellen met een beoogde voorspellende waarde voor de kliniek van onmisbare waarde.

Wij gebruiken apen, en dan voornamelijk (resus)makaken, als model voor tuberculose. Aan de hand van experimentele vaccinatie en infectie proberen wij enerzijds om de werkzaamheid van nieuwe vaccins te evalueren en anderzijds om een beter inzicht te verkrijgen in de mechanismen van ziekte en beschermende afweer (immunititeit). Er zijn ook andere diersoorten die voor TB-onderzoek worden gebruikt, maar voor geen van die modellen is de voorspellende waarde onomstotelijk aangetoond door het ontbreken van betrouwbare ijkpunten (biomerkers) van beschermende immunititeit. Het apen-TB-model vormt een relevante schakel in de ontwikkeling van een beter TB-vaccin, omdat apen in vele opzichten lijken op de mens (immunologie, fysiologie, etc.), natuurlijk gevoelig zijn voor infectie en eenzelfde ziekteproces na infectie laten zien.

In onze experimenten houden wij doorgaans de besmettingsfase zo kort mogelijk en meten we diverse waardes om het ziekteproces en het behandelingseffect zo nauwkeurig mogelijk in kaart te brengen in zo klein mogelijke diergroepen. Het ongerief wordt strikt bewaakt tijdens de besmettingsfase. Om ernstiger ongerief te voorkomen, hanteren we (voortijdige) humane eindpunten in voorkomende uitzonderlijke gevallen.

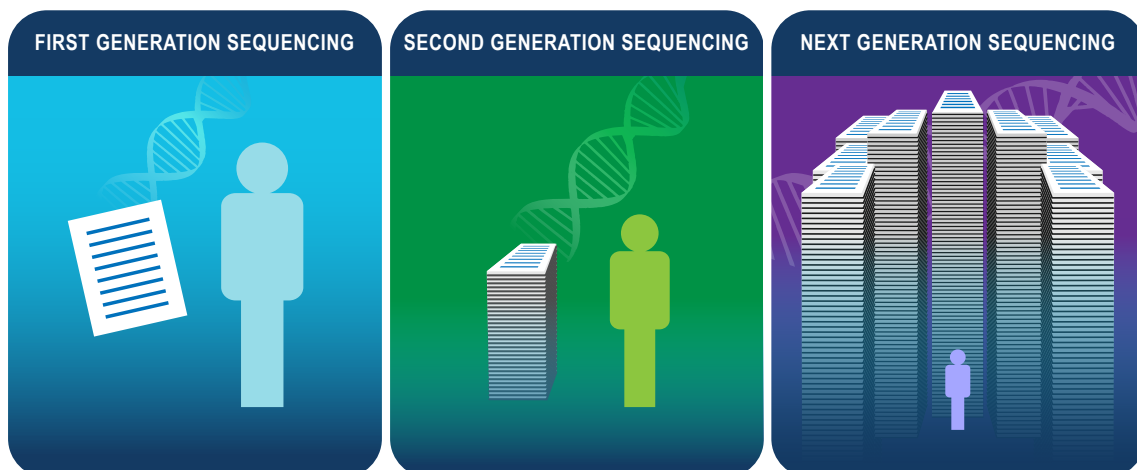
Het afgelopen jaar hebben wij verschillende nieuwe vaccins en strategieën in resusapen onderzocht. Eén experiment is afgerond en heeft positieve indicaties voor verbetering te zien gegeven door een eiwitboostvaccinatie na BCG. Dit eiwitboostervaccin wordt (door collega's buiten het BPRC) verder ontwikkeld en mogelijk spoedig in de kliniek verder getest. Een andere studie is in het betreffende jaar gestart, maar tot op heden nog niet afgerond. Daarnaast hebben we met gebruik van opgeslagen weefsel van voorgaande studies een bijdrage kunnen leveren aan de identificatie van een specifieke populatie van macrofagen die geassocieerd is met progressieve TB en in de toekomst mogelijk als doelwit voor een nieuwe therapie kan fungeren.

## Dierexperimenteel onderzoek

In de afdeling **Vergelijkende Genetica en Verfijning (CG&R)** onderzoekt men de genetische kenmerken van de apen in de BPRC-fokkolonies, en van primaten die in andere centra zijn gehuisvest. Voor het genetisch onderzoek is een hoeveelheid bloed nodig, dat kan worden afgenomen bij de jaarlijkse gezondheidscontroles van de dieren. Uit het bloed wordt het erfelijk materiaal, ofwel DNA geïsoleerd. DNA-moleculen zijn lange ketens, die worden gevormd door vier verschillende chemische bouwstenen ofwel nucleotiden. Een gen is een deel van het DNA, dat binnen de lichaamscel wordt vertaald naar een eiwit. In feite zijn het eiwitten die alle chemische processen binnen de cel besturen. De volgorde van de vier nucleotiden in de genen kunnen per individu verschillen, en dit leidt tot variaties in eiwitten. Het resultaat hiervan is dat we allemaal anders zijn.

Omdat bij het BPRC onderzoek wordt gedaan naar ziekten van het immuunsysteem, onderzoekt de afdeling CG&R genen die betrokken zijn bij de immunologische afweer. De nadruk ligt hierbij op de genen van het major histocompatibility complex (MHC). De MHC-eiwitten spelen een belangrijke rol in de herkenning van bacteriën, virussen en parasieten. De variatie van MHC-genen en -eiwitten binnen de populatie kan leiden tot verschillen in gevoeligheid, of juist resistentie voor bepaalde ziekten. De MHC-typeringen kunnen daarom worden gebruikt om apen te kunnen selecteren voor onderzoek naar bepaalde ziekten. Dit draagt bij aan de vermindering en verfijning in het proefdieronderzoek.

Het genetisch onderzoek binnen de afdeling CG&R bestaat voornamelijk uit het bepalen van de volgorde van de vier bouwstenen in de genen, het zogenaamde sequencen. Sinds enkele jaren werkt men volgens de principes van Next Generation Sequencing. De capaciteit van deze nieuwe machines is enorm in vergelijking met de oudere apparaten. Met de omvangrijke hoeveelheid analyseresultaten staan de medewerkers voor een geheel nieuwe uitdaging; het analyseren en verwerken van deze gegevens. Bovendien beheren medewerkers van de afdeling CG&R een database, waar onderzoekers elders ter wereld hun MHC-sequenties van alle soorten apen kunnen indienen





[www.ebi.ac.uk/ipd/mhc/nhp/index.html](http://www.ebi.ac.uk/ipd/mhc/nhp/index.html). Ook deze onderzoekers gaan over tot de Next Generation Sequencing technieken, waardoor de werkzaamheden binnen de afdeling steeds meer in de richting van de bio-informatica zullen verschuiven.

Binnen de **Unit Alternatieven** wordt wetenschappelijk onderzoek verricht met als doel het vervangen, verminderen of verfijnen (de drie V's) van dierexperimenteel onderzoek. Het onderzoek binnen de Unit Alternatieven is georganiseerd langs twee hoofdlijnen. Voor beide hoofdlijnen is in 2010 steun verworven van de Europese Unie, waarvoor de Unit binnen het kader van EUPRIM-NetII het onderzoek naar alternatieven voor apen coördineert. Daarnaast fungeert de Unit Alternatieven als centrale communicatiebron voor de onderwerpen die te maken hebben met alternatieven voor dierproeven binnen het BPRC en wordt er actief bijgedragen aan het publieke debat over dierproeven en de alternatieven daarvoor. Dit gebeurt mede middels publicatie van dit proefdierkundig jaarverslag. In 2014 hebben wij een internationale workshop op het BPRC georganiseerd met als thema alternatieve methoden voor het gebruik van apen in biomedisch onderzoek (zie ook: **Uitgelicht**).

De eerste onderzoekslijn in de Unit is gericht op het ontwikkelen van nieuwe *in vitro* methoden. *In vitro* methoden zijn, in tegenstelling tot *in vivo* methoden, proefdiervrij. Door bijvoorbeeld kweekmethoden op te zetten voor verschillende celtypen (door primaire celkweek of stamceltechnologie) kunnen kandidaat teststoffen of strategieën voordat ze eventueel in een proefdier getest zouden worden op deze celkweken getest worden op werkzaamheid. Binnen het Instituut wordt dit de *pre in vivo* testfase genoemd en zijn hiermee al verschillende kandidaat stoffen uitgeselecteerd waardoor er minder dierproeven nodig waren.

Celkweken worden opgezet vanuit bloed of stukjes dierlijk of menselijk materiaal verkregen uit biopten of van donoren. Belangrijk daarbij is dat er nooit dieren specifiek geofferd worden voor de start van deze kweken, maar dat er altijd sprake is van dieren die vanwege ouderdom of beëindiging van een ander experiment geëuthanaseerd zijn. In tegenstelling tot het werk met cellijnen zijn deze kweeksystemen vaak kortdurend en eindig. Toch hebben deze primaire celkweken vaak een betere voorspellende waarde dan cellijnen en is het dus de tijd en moeite waard om deze bij herhaling op te zetten. Het belangrijkste voordeel van cellijnen, hun onsterfelijkheid, is namelijk tevens hun belangrijkste nadeel. Onsterfelijke cellijnen verliezen na verloop van tijd hun cel-specifieke eigenschappen en lijken dan nog het meest op tumorcellen waardoor het testen van bepaalde ideeën of behandelingsmethoden niet goed meer mogelijk is.

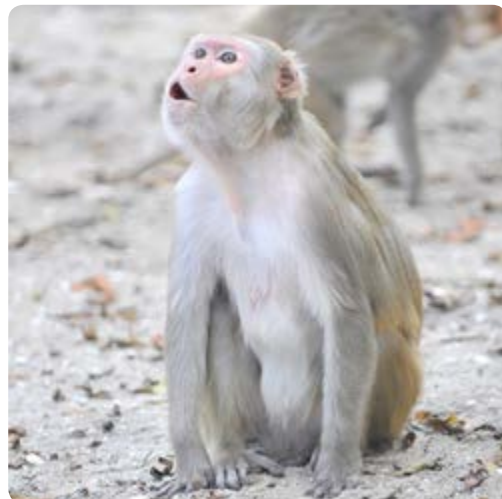
Wij hebben technologie ontwikkeld die het mogelijk maakt om met name cellen uit het centraal zenuwstelsel (astrocyten en microglia) alsmede cellen die een belangrijke rol spelen in het immuunsysteem (macrofagen en dendritische cellen opgekweekt uit bloed en beenmerg) op te kweken. Afgelopen jaar hebben we verschillende moleculaire routes ontrafeld die op verschillende celtypen ontstekingsreacties kunnen remmen of ver-

## Dierexperimenteel onderzoek

ergeren. Ook hebben we in hersenmateriaal van overleden mensen met MS en van overleden apen met een ziekte die sterk lijkt op MS (het diermodel voor MS) gespeurd naar de betrokkenheid van bepaalde receptoren en signaalstoffen. Deze studies worden komend jaar voortgezet. Ultiem doel is om de diermodellen uiteindelijk geheel te kunnen vervangen door *in vitro* methoden.

Een tweede onderzoekslijn is gericht op verfijning van dierexperimenteel onderzoek binnen het instituut. Om het immuunsysteem extra te activeren wordt er bij mensen en proefdieren vaak gebruik gemaakt van hulpstoffen (*adjuvantia*). Helaas gaat het injecteren van adjuvantia vaak gepaard met ongewenste bijwerkingen zoals ontstekingen van de huid op de injectieplaatsen. Binnen de Unit wordt op verschillende manieren gewerkt aan de ontwikkeling van nieuwe adjuvantia met vergelijkbare immuun-stimulerende werking maar met minder of geen bijwerkingen.

Om de gewenste immuun-stimulerende effecten van adjuvantia te bestuderen hebben we in de Unit *in vitro* bioassays ontwikkeld op basis van menselijke cellijnen. Om de ongewenste bijwerkingen van adjuvantia te bestuderen hebben wij in de afgelopen jaren een *in vitro* kweekmodel opgezet waarvoor menselijk bloed gebruikt wordt. Beide technieken zijn dus volledig proefdiervrij en worden uitvoerig gebruikt in top-down en bottom-up benaderingen. Bij de top-down benadering nemen we een oorspronkelijk adjuvant als uitgangspunt en proberen we in dat adjuvant kleine veranderingen aan te brengen om zodoende de onwenselijke bijwerkingen te verminderen. Bij de bottom-up benadering is het oorspronkelijke adjuvant in zeer kleine onderdelen opgesplitst en worden deze onderdelen allen eerst afzonderlijk in bioassays getest op de gewenste immuunstimulerende activiteit. Met behulp van deze bioassays hebben wij in 2014 zowel kwalitatief als kwantitatief de door het oorspronkelijke adjuvant opgewekte immuun responsen in kaart gebracht. Daarnaast hebben wij deze responsen nagebootst *in vitro* met behulp van specifieke -schone- reagentia en daarmee zelf een nieuw adjuvant samengesteld. Dit nieuwe adjuvant zal komend jaar eerst in apen getest worden op ongewenste bijwerkingen, en als het beter is dan het oorspronkelijke zullen we het verder testen. Dit alles in het kader van verfijning.



## Openheid en communicatie



Naast het inpassen van de drie V-principes binnen de eigen organisatie participeert het BPRC ook in verschillende (inter)nationale gremia die zich bezighouden met proefdiergebruik. BPRC diervverzorgers, dierenartsen en ethologen nemen actief deel aan verschillende (inter)nationale meetings en congressen waarbij ervaringen met vakgenoten uitgewisseld worden en zijn actief betrokken bij organisaties zoals de Biotechnische Vereniging, de Nederlandse Vereniging voor Proefdierkunde, en Europese Vereni-

ging voor dierenartsen. Door het uitwisselen van ervaringen met vakgenoten kunnen methoden en protocollen van verschillende instituten op het gebied van voeding, huisvesting en verzorging gestandaardiseerd worden en wordt een belangrijke bijdrage geleverd aan de drie V's.

Verder heeft de secretaris van de DEC van het BPRC zitting in het bestuur van de overkoepelende organisatie van DEC's in Nederland: de NV-DEC. Deze organisatie zet zich vooral in voor scholing en bijscholing van DEC-leden.

Door het geven van rondleidingen, open dagen en voorlichtingen probeert het BPRC zo transparant mogelijk te zijn. Vanzelfsprekend kan dit alleen met inachtneming van het waarborgen van de veiligheid en gezondheid van dier en mens. Het BPRC biedt studenten de mogelijkheid om hun (afstudeer)stage op het BPRC uit te voeren. Studenten van VMBO, MBO, HBO en Universiteiten maken hier veelvuldig gebruik van. Verder worden er regelmatig rondleidingen verzorgd aan geïnteresseerden, zoals scholieren en studenten. Ook in 2014 zijn er rondleidingen geweest voor een groot aantal scholen, opleidingen en geïnteresseerde groepen uit binnen- en buitenland, en hebben onze diertrainers en koloniemanager lezingen verzorgd bij verschillende gelegenheden. Daarnaast geeft het BPRC workshops op vaktechnische gebieden (zie ook: ***Uitgelicht***). Verder verschaft het BPRC op verzoek informatie aan de Stichting Informatie Dierproeven ([www.stichtinginformatiedierproeven.nl](http://www.stichtinginformatiedierproeven.nl)), levert het sprekers voor debatten over proefdiergebruik, en is het hoofd van de Unit Alternatieven sinds 2010 lid van de redactieraad die de brochure "Dierproeven: Zo doen ze dat!" op inhoud toetst.

Internationaal heeft het BPRC een actieve rol in de initiatieven die georganiseerd worden door het Engelse Centrum voor de 3V's (UK National Centre for 3Rs: [www.nc3rs.org.uk](http://www.nc3rs.org.uk)) om het gebruik van alternatieven te stimuleren (Expert working group 'Non-human primates in monoclonal antibody studies').

### ***Uitgelicht:***

#### *Workshop Alternatieve methoden voor het gebruik van apen in biomedisch onderzoek*

Het experimentele gebruik van apen in Europa is strak gereguleerd en wordt alleen toegestaan als er geen alternatieven beschikbaar zijn. Hierdoor worden apen vooral gebruikt in een laat stadium van de preklinische fase van biomedisch onderzoek. Hoewel wetenschappers, politici en het grote publiek de noodzaak inzien van methodes om het gebruik van apen voor biomedisch onderzoek te vervangen, verminderen en verfijnen, staat de ontwikkeling van 3V-technologie voor apen voor specifieke uitdagingen.

In februari 2014 werd op het BPRC een workshop over 'Alternatieve methoden voor het gebruik van apen in het biomedisch onderzoek' georganiseerd binnen het internationale uitwisselingsprogramma van EUPRIM-Net II ([www.euprim-net.eu](http://www.euprim-net.eu)), een Europese infrastructuur die primatencentra voor biomedisch onderzoek verbindt. De organisatoren van de workshop hadden vier belangrijke doelstellingen:

1. Het delen van informatie om het gebruik van alternatieve methoden voor onderzoek met apen te vergemakkelijken en te vergroten
2. Het bediscussiëren van de mogelijkheden en de uitdagingen om het gebruik van alternatieve methoden te vergroten
3. Het identificeren van obstakels die de ontwikkeling van alternatieven hinderen
4. Het verschaffen van transparantie aan het publiek en aan andere belanghebbenden en belangstellenden over de status van alternatieve methoden in onderzoek met apen

De workshop omvatte twee dagen met lezingen van de belangrijkste wetenschappers op het gebied van alternatieven alsmede van deskundigen van overheids- en andere betrokken organisaties. Bovendien werden parallelle sessies georganiseerd om de discussie te stimuleren over de uitdagingen van het bevorderen van het gebruik van alternatieve methoden. Subgroepen stemden over vier stellingen en stelden een lijst samen met mogelijkheden en prioriteiten.

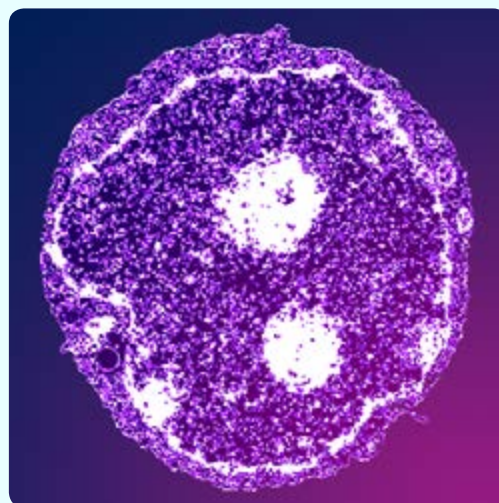
De vier stellingen waarover gestemd is zijn de volgende:

1. *Recente technische ontwikkelingen maken het mogelijk om transgene apen te maken. Zulke dieren zouden eventueel ingezet kunnen worden voor onderzoek en mogelijk zelfs bij kunnen dragen aan vermindering of verfijning van dierproeven. Is dit een echte 3V-mogelijkheid voor de toekomst?*

Geen van de groepen beschouwden transgene apen als een 3V mogelijkheid. Allereerst waren er zorgen over de publieke opinie omtrent het werken met transgene apen. Ten tweede werd er gerefereerd aan het werk met transgene muizen, waar de techniek eerder heeft geleid tot een toename van proefdieraantallen dan een afname. En ten derde werd er ingebracht dat door het feit dat apen niet ingeteeld zijn, eventuele resultaten moeilijk interpreteerbaar zouden zijn. Alhoewel men het er wel over eens was dat op de lange termijn een betere controle over de genetische achtergrond van de dieren in combinatie met een reductionistische onderzoek aanpak zou kunnen leiden tot betere wetenschap, werd dit indirecte effect toch een minder groot belang toegedacht. Tijdens de laatste discussie werd gesuggereerd om de praktische haalbaarheid en de ethiek van dit onderwerp in detail te laten karakteriseren door een expertgroep.

2. *Stamcel technologie – Hebben we apenstamcellen nodig en is dit een 3V-mogelijkheid?*

Alle groepen beschouwden stamcellen als een kans om de aantallen apen in onderzoek te verminderen en mogelijk zelfs te vervangen. Deze cellen kunnen niet alleen bestaande *in vivo* studies beter onderbouwen en aanvullen, maar ze kunnen ook gebruikt worden om bevindingen met menselijke stamcellen te valideren en eventueel weer te testen *in vivo*. Dit zou ons dan ook informatie kunnen verschaffen



over de bruikbaarheid van humane stamcellen als voorspellende modellen. Meer specifiek was men enthousiast over de mogelijkheden tot het maken van stamcellen uit cellen uit de huid (fibroblasten), gezien het feit dat deze zonder veel lijden van het dier verkregen zouden kunnen worden.

3. *Biobanking – Hebben we biobanking nodig voor apen en is dit een 3V-mogelijkheid?*

Alle groepen beschouwden biobanking (de opslag van biologisch materiaal afkomstig van bv. overleden dieren) als een 3V-mogelijkheid. Biobanken kunnen direct leiden tot vermindering van apen in *in vivo* experimenten en kunnen ook bijdragen aan betere wetenschap doordat het wetenschappers meer kansen biedt om stoffen en methoden eerst te testen op bijvoorbeeld weefsels of cellen. Twee groepen gaven aan dat de financiering van biobanking wel problematisch is, aangezien onderzoek steeds meer projectmatig gefinancierd wordt en biobanking daar zelden deel van uitmaakt.

### 4. *Moeten alle 3V's als even belangrijk ingeschaald worden voor onderzoek met apen?*

De groepen waren het hier unaniem over eens. Er moet gelijke aandacht, focus en budget zijn voor alle vormen van 3V-alternatieven inclusief verfijning. Dit wordt nu vaak gezien als de minst belangrijke V maar verfijningsinitiatieven kunnen grote impact hebben op dierenwelzijn en zijn vaak realistischer dan meer jaren plannen die zich richten op vervanging. De meningen waren verdeeld over de vraag of het vervangen van apen door andere dieren (bv. knaagdieren) wenselijk was en of dat als een 3V-mogelijkheid gezien moest worden.

Naast deze stemmingen, zijn er door de verschillende expertgroepen mogelijkheden geïdentificeerd tot 3V-alternatieven. Al deze mogelijkheden, die soms heel technisch van aard zijn, zijn samengevat in het rapport over de workshop dat gepubliceerd is in het wetenschappelijke tijdschrift ALTEX en gratis en vrij toegankelijk is voor iedereen ([www.bprc.nl/download/Altex\\_2014\\_Burm.pdf](http://www.bprc.nl/download/Altex_2014_Burm.pdf)).

De workshop werd afgesloten met het opstellen van een lijst met aanbevelingen. Deze aanbevelingen zijn tot stand gekomen door een samenspraak van mensen uit het onderzoeksveld, regelgeving, politiek en andere belanghebbenden. De lijst is op geen enkele manier bedoeld om andere 3V-initiatieven te ontmoedigen, maar is een weergave van onderwerpen die deze groep mensen zou aanbevelen als prioriteit.

- *Verfijning*

Verfijningsinitiatieven voor onderzoek met apen richten zich vaak op realistische doelen en er zou gelijke aandacht, focus en budget moeten zijn voor alle 3V-initiatieven. Alhoewel het overduidelijk is dat Vervanging het uiteindelijke doel is, moeten verfijningsmogelijkheden zo ver ontwikkeld worden als mogelijk is. Specifiek voor onderzoek met apen, dat vaak in een zeer laat stadium van de onderzoeksopbouw plaatsvindt, is verfijning vaak de best haalbare V.

- *Stamceltechnologie voor apen, en dan in het bijzonder iPS cellen*

Zoals hierboven al in detail beschreven kunnen iPS cellen onderzoekers veel waardevolle 3V-mogelijkheden geven. Ze kunnen gemaakt worden uit huidcellen die met minimaal ongerief voor het dier verkregen kunnen worden. Ze kunnen vervolgens gebruikt worden om allerlei celtypen te maken voor *in vitro* studies. De technologie is in zeer snel tempo ontwikkeld voor de mens, en zou in theorie ook mogelijk moeten zijn voor apen.

- *Verdere ontwikkeling, optimalisering en validatie van in vivo apenmodellen*

Huidige *in vivo* apen modellen moeten voortdurend zeer kritisch geëvalueerd worden voor hun voorspellende waarde voor de mens. Daartoe moeten er ook studies uitgevoerd worden met geneesmiddelen waarvan de resultaten afwijkend waren tussen mens en aap om te achterhalen waarom dit zo is. Deze zogenaamde backward validation studies zouden moeten leiden tot beter voorspellende *in vivo* modellen.

- *Een register voor gefaalde geneesmiddelen*

Geneesmiddelen die niet werkzaam zijn in apen of gevaarlijk blijken te zijn, vallen af voor verdere testen in de mens. Er is op dit moment geen goed overzicht van zulke geneesmiddelen. Deze informatie is waardevol voor apenonderzoekers om herhaling van onsuccesvolle onderzoeken te voorkomen en kan daarmee bijdragen aan vermindering van het aantal voor experimentele doeleinden gebruikte dieren. Tevens zou zo'n register ook beter duidelijk maken dat experimenten met apen bijdragen aan de volksgezondheid door geneesmiddelen met mogelijk ongewenste bijwerkingen uit te filteren.

- *Communicatie, educatie en bereik*

Communicatie over de 3V's en onderzoek met apen zou zich niet dienen te beperken tot wetenschappers alleen. Er zouden meer pogingen moeten zijn om het publiek, regelgevers, politiek en fondsen te betrekken. De verantwoordelijkheid voor het uitvoeren en communiceren over apenonderzoek zou beter gedeeld dienen te worden. Communicatie, educatie en bereik van 3V-initiatieven zouden wereldwijd gericht moeten zijn zodat strengere wet- en regelgeving omtrent apenonderzoek in Europa niet contraproductief werkt door outsourcing van apenonderzoek te stimuleren naar landen met minder wetgeving op het gebied van dierenwelzijn.

Evaluatie van de workshop door de deelnemers leerde dat er een grote behoefte was om van elkaar te leren en dat de mix van wetenschappelijke, politieke en publieke presentaties gewaardeerd werd en nodig geacht werd om daadwerkelijk vooruitgang te boeken. Ondanks dat er een groot en breed draagvlak is voor het ontwikkelen van 3V alternatieven voor apenonderzoek werd er tevens geconstateerd dat er zeer weinig budget daadwerkelijk gereserveerd is voor dit type werk binnen de globale en Europese onderzoeksprogramma's. Workshops zoals deze dienen daarmee niet alleen tot het delen van kennis, maar de meningen van experts zouden ook kunnen dienen om politici te helpen geïnformeerde beslissingen te nemen wanneer gelimiteerde onderzoeksbudgetten geprioriteerd dienen te worden. ■

