

Format Niet technische samenvatting

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

Tab NTS

Country	NL
Language	NI
EU submission	<input checked="" type="checkbox"/> yes <input type="checkbox"/> no
Title of the project	<i>Plasmodium cynomolgi</i> /resusaap model voor <i>P. vivax</i> malaria in mensen voor geneesmiddelenontwikkeling
NTS identifier	Deze wordt door de CCD ingevuld
NTS national identifier	Deze wordt door EC ingevuld
Duration of the project	60 (in months)
Keywords	
Keyword 1	Malaria
Keyword 2	Slapende leverstadia
Keyword 3	Geneesmiddelen
Keyword 4	Niet-humane primaten
Keyword 5	Translationeel onderzoek

Purpose(s) of the project

Objectives of the project

Malaria wordt veroorzaakt door Plasmodiumparasieten. Besmetting vindt plaats door de beet van geïnfecteerde malariamuggen, waarna de parasieten (zgn. sporozoïeten) de lever infecteren om zich daar verder te vermenigvuldigen en ontwikkelen tot parasieten die het bloed van de patiënt infecteren, waardoor patiënten ziek worden. Sommige Plasmodiumsoorten, die alleen de mens en apen kunnen infecteren, vormen ook slapende leverstadia (hypnozoïeten). Deze kunnen op willekeurige momenten weer gaan groeien en uiteindelijk weer opnieuw ziekte veroorzaken. Er zijn maar twee geneesmiddelen beschikbaar die deze hypnozoïeten doden, en die hebben erg veel bijwerkingen. Om malaria effectief te kunnen bestrijden zijn nieuwe, veiligere geneesmiddelen nodig die hypnozoïeten doden. Het ultieme doel van dit project is het ontdekken van zulke geneesmiddelen, die dan verder ontwikkeld kunnen worden voor toepassing in de mens. Omdat hypnozoïet-vormende parasieten die de mens infecteren (*Plasmodium vivax* is de belangrijkste) alleen maar in mensen in de (sub)tropen voorkomen en dus moeilijk beschikbaar zijn voor onderzoek, gebruiken wij een apenmodel voor deze parasiet (*Plasmodium cynomolgi*), die in alle

aspecten heel veel lijkt op *P. vivax*. Van deze parasiet kunnen wij de leverstadia in kwekschaaltjes kweken om daar geneesmiddelen op te testen. Wij bestuderen ook de biologie van de parasiet, zowel in de kwekschaaltjes als in de aap, om beter te leren begrijpen waar de zwakke plekken van hypnozoieten zitten, waartegen we geneesmiddelen kunnen ontwikkelen. Bij dit soort onderzoek maken we ook gebruik van genetisch veranderde parasieten, die bijvoorbeeld bepaalde merkers maken (om ze makkelijk te kunnen herkennen/zuiveren), of waar bepaalde genen uitgeschakeld zijn (om te zien of hypnozoieten dood gaan zonder die genen, die in dat geval zeer geschikt zijn om geneesmiddelen tegen te ontwikkelen). Tevens ontwikkelen we een beeldvormingsmethode (PET-CT) om parasieten in de lever van besmette apen zichtbaar te maken. Dit is nodig om de ontwikkeling en biologie van de parasieten in kwekschaaltjes goed te kunnen vergelijken met die in een besmet dier, zodat we uiteindelijk zeker weten dat nieuwe geneesmiddelen niet alleen maar parasieten in kwekschaaltjes kunnen doden, maar ook bij een echte infectie effectief zullen zijn (validatie van *in vitro* model).

Potential benefits likely to derive from this project

Wij verwachten dat we door het testen van heel veel chemische stoffen op hypnozoieten nieuwe middelen vinden die hypnozoieten kunnen doden. Ook zal de nieuwe kennis die we opdoen over de biologie van de hypnozoieten, zowel in kwekschaaltjes als in de aap, ons naar verwachting leren waar mogelijk zwakke plekken van de parasiet zitten. Met die kennis kunnen we dan gericht zoeken naar middelen die die zwakke plekken aanpakken. Zowel via grootschalig testen, als via een gerichte aanpak van mogelijk zwakke plekken, zullen nieuwe stoffen ontdekt worden die verder getest en ontwikkeld kunnen worden tot nieuwe geneesmiddelen om met *P. vivax*-besmette mensen te genezen. Dit zijn de eerste stappen op weg naar controle en uiteindelijk uitroeiing van vivax malaria.

Predicted harms

In what procedures will the animals typically be used

Parasietinfecties gebeuren d.m.v. i.v. injectie onder sedatie (1x per dier; 10 min.). Kleine bloedafnames gebeuren door een naaldprik in het been. Dieren worden getraind om mee te werken aan deze procedure d.m.v. positive reinforcement training, en beloond met iets lekkers (5-15x per dier; 5 min). Grotere bloedafnames gebeuren onder sedatie (max 4 x i.m. injectie; 10 min). Genezing van bloedstadiummalaria gebeurt door i.m. injecties met anti-malariamiddelen (3 x i.m. injectie; 2 min). Als een aap met sporozoitien geïnfecteerd is, wordt de aap radicaal genezen d.m.v. de huidige standaardbehandeling om bloedstadia (5 x i.m. injecties; 2 min.) en leverstadia (orale toediening door drinken uit spuit; 3-7 keer; 2 min.) te doden. Bij gebruik van genetisch veranderde parasieten krijgen de dieren om de dag pyrimethamine verstoep in een stukje fruit, om eventueel aanwezige wildtype parasieten te doden (3-4x oraal; 2 min). Nieuwe potentiële geneesmiddelen worden oraal toegediend (via maagsonde onder sedatie), ca. 1 x per dag gedurende 1-5 achtereenvolgende dagen. Bij herhaaldelijke toedieningen waarbij de dieren gesedeerd worden, zal ook 1x per dag extra voedsel worden toegediend via maagsonde, na toediening van het te testen middel. PET-CT gebeurt onder anesthesie (max 5x ;30 min na i.v. toediening van tracer).

Expected impacts/adverse effects on the animals

Biotechnische handelingen kunnen stress veroorzaken. Dit wordt zoveel mogelijk beperkt door dieren te trainen voor eenvoudige handelingen. Voor complexere handelingen zullen dieren verdoofd worden om meer stress en pijn te voorkomen. Verder kunnen dieren mogelijk ziek worden door malariabesmetting, of bijwerkingen van toegediende medicijnen.

Reasons for the planned fate of the animals after the procedure
Op het einde van het experiment worden de dieren genezen van malaria en na controle kunnen ze deel blijven uitmaken van de kolonie met experimentele dieren op het instituut en komen in aanmerking voor hergebruik. Een klein aantal dieren zal worden geëuthanaseerd om parasieten uit de lever te kunnen isoleren voor (moleculair)biologisch onderzoek.

Application of the Three Rs

1. Replacement

In het onderzoek naar nieuwe geneesmiddelen tegen malaria hypnozoieten hebben we het gebruik van proefdieren drastisch verminderd door een *in vitro* kweek van leverstadiumparasieten te ontwikkelen. Echter, de bloedstadia van *P. cynomolgi* parasieten kunnen weliswaar in kwekschaaltjes gekweekt worden, maar muggenvoedingen op deze kweken leveren lang niet voldoende kwalitatief goede sporozoieten op om leverstadiumkweken mee op te zetten. Om aan de benodigde parasieten voor de leverstadium kweken te komen, worden dieren besmet met de malariaparasiet. Verder moeten mogelijke geneesmiddelen die in de leverstadiumkweek ontdekt worden eerst getest worden op werking in een echte infectie in een dier, voordat verdere ontwikkeling plaats kan vinden en de geneesmiddelen op mensen getest kunnen worden. Door het nauwe gastheerbereik van parasieten die hypnozoieten vormen-deze besmetten alleen mensen en apen- is het gebruik van apen in de keten van geneesmiddelen ontwikkeling onvermijdelijk.

2. Reduction

Het aantal dieren dat gebruikt wordt in het screeningsproces van mogelijke geneesmiddelen en voor de ontdekking en validering van mogelijke processen in de hypnozoiet die gevoelig zijn voor geneesmiddelen, is gebaseerd op een zo hoog mogelijke doorloopsnelheid. Het is uiteindelijk de bedoeling om wereldwijd miljoenen chemische stoffen te testen op activiteit, omdat de verwachting (en ervaring tot nu toe) is dat er maar weinig stoffen zullen zijn die de hypnozoiet echt kunnen doden en ook tot geneesmiddel voor mensen ontwikkeld kunnen worden. Alle experimenten zijn zo gepland dat de resultaten uit 1 experiment meegenomen kunnen worden in een vervollexperiment. Voor het *in vivo* testen van de werking van mogelijke geneesmiddelen wordt gebruik gemaakt van statistische analyses om tot de optimale groepsgrootte te komen. Waar mogelijk worden parasietdonorapen gecombineerd gebruikt voor verschillende experimenten, bijv. een donoraap voor *in vitro* screenen en voor een *in vivo* studie. Het screeningsproces van nieuwe chemische stoffen op werkzaamheid gebeurt met in kwekschaaltjes gekweekte hypnozoieten. Deze technologische ontwikkeling heeft geleid tot een hele grote reductie van het aantal dieren dat nodig is voor zo'n screening.

3. Refinement

Door het nauwe gastheerbereik van malariaparasieten die hypnozoieten vormen -deze besmetten alleen mensen en apen- is het gebruik van apen in de keten van geneesmiddelen ontwikkeling noodzakelijk. Door onze ervaring met het diermodel hebben we de protocollen kunnen verfijnen om het ongerief zo klein mogelijk te maken. Zo maken we gebruik van getrainde dieren voor bepaalde procedures, wat de stress aanzienlijk vermindert en kunnen we het volgen van de parasitemie in het bloed tot een minimum beperken, omdat we bij benadering weten wanneer we parasieten in het bloed kunnen verwachten. Verder willen we beeldvormingstechnieken

Choose a species