



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

TNO

Postbus 96800

2509 JE DEN HAAG



**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

AVD501002017888

Bijlagen

1

Datum 24 maart 2017

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 28 februari 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Bestuderen van functie en farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek" met aanvraagnummer AVD501002017888. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 14 maart 2017 heeft u uw aanvraag aangevuld. Dit betrof een nieuwe NTS.

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 "Bestuderen van functie en farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek" starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 januari 2018 tot en met 31 december 2022. Deze termijn is anders dan in uw aanvraag, omdat een project voor maximaal 5 jaar vergund kan worden.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-TNO gevoegd. Dit advies is opgesteld op 28 februari 2017. 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:
24 maart 2017
Aanvraagnummer:
AVD501002017888

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


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: TNO
Adres: Postbus 96800
Postcode en plaats: 2509 JE DEN HAAG
Deelnemersnummer: 50100

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 januari 2018 tot en met 31 december 2022, voor het project "Bestuderen van functie en farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek" met aanvraagnummer AVD501002017888, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-TNO. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Onderzoeker. De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 28 februari 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 28 februari 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 14 maart 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 28 februari 2017, ontvangen op 28 februari 2017.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 14 maart 2017

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1 Ex vivo bestuderen van functie en farmacokinetiek van stoffen in lever/nier/darm				
	Varkens (<i>Sus scrofa domestica</i>) /	120	98% Terminal 2% Licht	

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.

Aanvraagnummer:
AVD501002017888

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 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:
AVD501002017888

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:
AVD501002017888

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.

De Minister heeft vrijstelling ontheffing verleend volgens artikel 13c, die de afwijkende methode van doden op basis van wetenschappelijke motivering ten minste even humaan acht als de in de richtlijn opgenomen passende methoden.

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:
2. Titel van het project: **Bestuderen van functie en farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek**
3. Titel van de NTS: **Bestuderen van functie en farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek**
4. Type aanvraag:
 - ☒ nieuwe aanvraag projectvergunning
 - ☐ wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: **DEC TNO**
 - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
 - e-mailadres contactpersoon: [REDACTED]
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - X ontvangen door DEC: **14-12-2016**
 - X aanvraag compleet: **14-12-2016**
 - X in vergadering besproken: **21-12-2016**
 - X anderszins behandeld: **schriftelijke vragen voorgelegd aan indiener**
 - x termijnonderbreking(en) **van 22-12-16 tot 8-2-17 en van 20-2-17 tot 22-2-17**
 - ☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - x aanpassing aanvraag: **8-2-17 en 22-2-17**
 - x advies aan CCD: **28-2-2017**
7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD. **De aanvraag is afgestemd met de IvD en heeft instemming van de IvD.**

Bij de punten 8 t/m 10 kan worden volstaan met 'n.v.t.' wanneer de betreffende acties niet aan de orde zijn geweest. Bij vragen die gericht zijn op het compleet maken van de aanvraag (aanvullingen achtergrondinformatie etc.) kan bij punten 8 en 9 worden volstaan met de vermelding van het type vragen en de vermelding dat de aanvraag op de desbetreffende onderdelen is aangepast of dat de antwoorden in de aanvraag zijn verwerkt. Bij vragen die gericht zijn op het verkrijgen van verklaringen voor keuzes die door de aanvrager gemaakt worden, kan niet worden volstaan met het weergeven van de strekking van de antwoorden tenzij de antwoorden volledig in de aanvraag zijn opgenomen. Als dat het geval is, moet dat in het DEC-advies worden benoemd en in de aanvraag inzichtelijk worden gemaakt.

8. Eventueel horen van aanvrager: **n.v.t.**

- Datum
- Plaats
- Aantal aanwezige DEC-leden
- Aanwezige (namens) aanvrager
- Gestelde vraag / vragen
- Verstrek(e) antwoord(en)
- Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: **22-12-2016**
- Gestelde vraag/vragen

1. **Het doel van dit onderzoek is voor ons niet helemaal helder. Specifiek bij 3.1 lijkt het onderzoek gericht op diabetes type 2, terwijl elders in het projectvoorstel de toepassingsmogelijkheden voor metabole complicaties veel breder lijken zijn. Kunt u duidelijk maken – consequent op verschillende plaatsen in het voorstel – wat het doel van dit project is en, indien er meerdere doelen zijn, hoe deze zich tot elkaar verhouden?**
2. **Om een goede afweging te kunnen maken hebben wij meer informatie nodig over de haalbaarheid van het onderzoek. Ten eerste (2a) verzoeken wij u om de onderzoeksgroep te beschrijven, in relatie tot dit onderzoek. Het is hierbij niet nodig om namen of referenties te geven. Beschrijf ook de ervaring van de onderzoeksgroep met dit type onderzoek, zodat wij de haalbaarheid van de beschreven doelen kunnen inschatten. Ten tweede (2b) verzoeken wij u wat meer te vertellen over de vervolgstappen richting onderzoek met mensen of menselijk materiaal. Hoe verhouden deze onderzoeken zich tot het beschreven onderzoek? Kunt u wat meer vertellen over de interactie?**
3. **De strategie waarmee u denkt de doelen te bereiken is voor ons niet helemaal helder. Bij 3.4, Onderzoeksstrategie, vragen wij ons af: hoe bepaalt u welke experimenten en validatie-experimenten u met darm en met lever en nier moet uitvoeren? Welke informatie uit bijvoorbeeld literatuur of experimenten op slachtmateriaal geven aan dat een experiment op ex-vivo-materiaal nodig is? Hoe bepaalt u vervolgens welke stoffen, drugs of externe factoren u moet onderzoeken?**
4. **Daarmee samenhangend bij 3.4 of bij D van de bijlagen: wat is uw strategie om het aantal proefdieren te minimaliseren? Welke strategieën past u toe om de verschillende onderzoeksvragen dusdanig te prioriteren zodat u het ex-vivo-materiaal optimaal kunt gebruiken? Wat zijn hierbij de factoren die bepalen dat wachten op het beschikbaar komen van ex-vivo-materiaal niet mogelijk is, en dat een dier besteld moet worden?**
5. **Om een goede afweging te kunnen maken is het nodig om goed te begrijpen hoe u aan de aantallen dieren komt die u aanvraagt. Dit is niet voldoende helder voor ons. Gebruik bij het verhelderen uw beschreven onderzoeksstrategie. Specificeer de alinea waarin u het aantal studies per jaar beschrijft. Daarnaast hebben wij gediscussieerd over hoe de factor dier een rol speelt in uw**

experimenten. U beschrijft dat u uiteindelijk naar experimenten wilt gaan waarbij maar 1 dier nodig is. Hoe borgt u in deze experimenten dat de variatie tussen dieren, en derhalve ook van het biologisch materiaal dat u gebruikt van dieren, geen systematische fout zal veroorzaken in uw experimenten? Is het niet altijd nodig om de factor dier mee te blijven nemen? Wellicht kunt u op basis van uw ervaring en historische data hierop ingaan.

- 6. In relatie hiermee: hoe borgt u, wellicht in samenwerking met de IvD, dat bij elk experiment alle benodigde stappen zijn nageleefd die ervoor zorgen dat er zo min mogelijk nieuwe dieren gebruikt hoeven te worden? Hierbij denken wij ook aan het gebruik van uw netwerk en samenwerkingsverbanden (welke?), en hoe deze keer op keer, per experiment, geraadpleegd zullen worden. Betrek in deze beschrijving zo nodig ook of in de experimenten het type varken een rol speelt.**
- 7. Om het ongerief goed te kunnen in schatten, vragen wij ons af welke typen stoffen er gebruikt zullen worden bij de experimenten waarbij de dieren vooraf behandeld worden. Hoe wordt geborgd dat het ongerief dat de dieren ondervinden niet meer dan licht zal zijn door eigenschappen van de stof (bijvoorbeeld irriterende stoffen)?**

- Datum antwoord: **8-2-2017**

- Verstrekt(e) antwoord(en)

- 1. Het doel van het project is om farmacokinetiek te bestuderen in zieke organen, waarbij de focus van het project ligt op ziekte veroorzaakt door metabool syndroom, een van de metabole complicaties is diabetes type 2. Bij metabool syndroom zijn de organen die betrokken zijn bij het klaren en omzetten van stoffen vaak aangedaan waardoor de handeling van stoffen zoals medicijnen verstoord is. Deze verstoring willen we bestuderen. Om verwarring te voorkomen is de omschrijving van diabetes type 2 uit het project voorstel gehaald. De beschrijving van achtergrond en doel zijn hiermee in lijn gebracht met het doel zoals hierboven beschreven. Alinea 3.1 is aangepast om de leesbaarheid te verbeteren en de doelstelling beter te omschrijven.**
- 2. 2a. Dit project heeft een hoge haalbaarheid doordat de betrokken onderzoeksgroepen veel expertise hebben op het gebied van farmacokinetiek en metabole ziekten. De onderzoeksgroepen hebben een brede expertise op het gebied van voorspellen en moduleren van kinetiek van oa voedingsstoffen en medicijnen in gezondheid en ziekte. De onderzoeksgroep bestaat uit onderzoekers met ruime ervaring in het bestuderen van farmacokinetiek in zowel in vivo en in vitro settings en onderzoekers die ervaring hebben met het bestuderen van metabole complicaties in vivo, waaronder leveraandoening en nierfalen. Afgelopen jaren is gewerkt aan het opzetten van een ex vivo darmmodel waarbij oa gebruik werd gemaakt van rest materiaal van varkens. De kennis hiervan wordt ook toegepast bij de praktische problemen die we tegenkomen bij de andere organen. Door deze kennis van meerdere onderzoeksgroepen binnen het instituut te combineren kunnen we optimaal gebruik maken van de aanwezig expertise binnen de onderzoeksgroepen.**

Ook zijn er veel (inter)nationale samenwerkingen waarbinnen de proefopzet en resultaten zullen worden getoetst. Dit is ook weergegeven bij 3.2

2b. Voor toepassing op humaan materiaal zijn we bezig om een vitale human tissue supply chain op te zetten. Om gebruik te kunnen maken van resectiemateriaal uit OKs en/of afgekeurd donormateriaal hebben we contact gehad met eurotransplant en de nederlandse transplantatie stichting en inzicht gekregen in de routes die gebruikt kunnen worden om deze weefsels in te zetten voor deze wetenschappelijke doeleinden. Dit is ook aangegeven in 3.4.1.

Voor vervolgstappen richting de mens zullen we gebruik maken van onze eigen praktische kennis die we op willen doen in dit project. Vice versa maken we in het huidige project ook veel gebruik van kennis beschikbaar uit de transplantatie wereld. Voor de lever hebben we hiervoor contact met oa UMC Groningen en voor de nier met UMC Utrecht, en daarnaast met OrganAssist, de leverancier van de ex vivo perfusie systemen, die veel ervaring hebben op dit gebied. Wat betreft het translationele aspect en de vervolgstappen richting de mens verwachten we dat het gebruik van varkens materiaal een goede uitgangsbasis vormt voor het opzetten van de techniek, de grootte van de organen is vergelijkbaar, maar ook dat varkensmateriaal geschikt is om een voorspelling te kunnen doen voor de mens. Het maagdarm kanaal van het varken lijkt sterk op de van de mens en veel processen zijn vergelijkbaar, waardoor voor een groot aantal medicijnen de farmacokinetiek vergelijkbaar zal zijn met de mens. Er zijn echter uitzonderingen, zoals bijvoorbeeld beschreven door Dalgaard in 2015

(Comparison of minipig, dog, monkey and human drug metabolism and disposition, [redacted]. Toxicol Methods, 2015), en hiermee zal dan ook rekening mee gehouden worden. Dit is ook aangegeven in 3.4.1.

3. Het bepalen welke validatie experimenten uitgevoerd moeten worden doen we aan de hand van literatuur. Voor de darm weten we al welke ex vivo condities nodig zijn om stukje weefsel van het orgaan in leven te kunnen houden en de functie te bestuderen. We hebben inmiddels veel inzichten gekregen in hoe we de absorptie van stoffen kunnen bestuderen in het ex vivo model (en dit ook vergeleken met literatuur – validatie ([redacted] A new approach to predict human intestinal absorption using porcine intestinal tissue and biorelevant matrices, Eur J Pharm Sci, 2014.). Experimenten en validatie experimenten die met de darm uitgevoerd moeten worden:

Validatie: bestuderen van farmacokinetiek van bekende stof (medicijn) in verschillende compartimenten van de darm en dit vergelijken met literatuur/humane data.

Experimenten die hierop volgen zullen gericht zijn op het bestuderen van farmacokinetiek van onbekendere stoffen (therapeutische eiwitten/peptides/biologics), dit zal vaak in samenwerking met een voedingsbedrijf of de farmaceutische industrie gedaan worden, waarbij de nadruk altijd zal liggen op het verbeteren van gezondheid van de mens.

Informatie die nodig is uit literatuur of experimenten op slachthuis materiaal die aangeven dat een ex-vivo experiment nodig is is onder andere kennis over waar in het orgaan de stof/medicijn

wordt verwerkt. Bij bijvoorbeeld het bestuderen van de invloed van de samenstelling van de darmmucosa is vers materiaal van belang. Voor de darm is dit bij 3.4.1 stapsgewijs beschreven: Voor darm:

- 1). Verder bouwen aan bestaande methodologische kennis mbv ex vivo experimenten om zo meer kennis te genereren of (dys)functie van de verschillende compartimenten van de darm in dierlijk weefsel
- 2). Validatie van deze kennis door het bestuderen van farmacokinetiek van een bekende stof in verschillende compartimenten van de darm.
- 3). Deze kennis en resultaten toetsen aan humane literatuur
- 4). Testen van experimentele onbekende stoffen (voedingsstoffen/medicijnen) in ex vivo setup met varkensmateriaal verkregen uit slachthuismateriaal of, indien noodzakelijk, uit voor proef opgeofferd dier.
- 5). Verder opzetten toegang tot humaan weefsel
- 6). Opgebouwde methodologische en inhoudelijke kennis toetsen en toepassen op humaan materiaal

Voor de nier en lever weten we uit de literatuur dat het mogelijk is om de organen voor een bepaalde periode (ongeveer 6 uur) ex vivo in leven te kunnen houden. Dit moeten we eerst zelf ook praktisch kunnen uitvoeren. We maken hierbij veel gebruik van de bestaande kennis uit het transplantatie veld, we zijn op bezoek geweest bij een groep in Leicester waar ook ex vivo lever en nier experimenten worden gedaan, maar moeten dit nog wel zelf verder opzetten. Hiervoor zijn pilot experimenten nodig.

Experimenten en validatie experimenten die met de lever en de nier uitgevoerd moeten worden:

Opzetten technisch protocol, waarbij levensduur en functie de belangrijkste uitleesparameters zullen zijn. Voor functie is bij de lever is oa galproductie, bloedgas pH, glucose en lactaat een standaard uitlezing (in transplantatie setting). Voor de nier is dit oa klaring (inuline, PAH, creatinine), natrium en kalium excretie en eventueel glucose.

Als we dit praktisch in de vingers hebben dan moet er gekeken worden hoe de ex-vivo organen omgaan (o.a. omzetten en excretie) met bepaalde stoffen/medicijnen waarvan bekend is hoe deze in de mens worden verwerkt in vivo (validatie-experimenten). Dit zal vergeleken worden met de literatuur en humane data.

We verwachten hierbij dat de varkens organen hierin weinig verschillen met de mens en dat de resultaten overeen zullen komen met de gegevens bekend uit literatuur. Als we dit hebben kunnen bevestigen dan zullen ook experimentele studies uitgevoerd worden waarbij medicijnen zullen worden getest die zich nog in de ontwikkelingsfase bevinden, dit zal in samenwerking met oa farmaceutische industrie worden gedaan. Ook hierbij zal de nadruk altijd zal liggen op het verbeteren van gezondheid van de mens.

De keuze om gebruik te maken van slachthuismateriaal of ex-vivo (vers) materiaal zal samenhangen met de kennis over de stof en het type orgaan. Voor lever en nier zal voor het technische opzetten zeker gekozen worden voor restmateriaal van andere proef of slachthuis, voor experimentele vragen zal dit per te testen stof of vraagstelling bekeken moeten worden. Deze stappen zijn ook in 3.4 stapsgewijs beschreven:

1). opzetten mogelijkheid om ex vivo nier en lever functie en farmacokinetiek te kunnen bestuderen in dierlijk weefsel. Hierbij zal gekeken worden naar functionele parameters, als die vergelijkbaar zijn met gegevens bekend uit de transplantatie wereld kunnen we ook farmacokinetische studies uitvoeren in een werkend orgaan.

2). Uitvoeren van validatie studies in dierlijk weefsel waarin klaring van een bekende stof wordt getest ex vivo. 3). Validatie experimenten vergelijken met bekende literatuur en humane data

4). Testen van experimentele onbekende stoffen (voedingsstoffen/medicijnen) in ex vivo setup met varkensmateriaal verkregen uit slachthuismateriaal of, indien noodzakelijk, uit voor proef opgeofferd dier. 5). Opgebouwde methodologie en inhoudelijke kennis toetsen en toepassen op humaan materiaal.

4.

Ten eerste proberen zo veel mogelijk gebruik te maken van materiaal afkomstig uit andere experimenten of van slachthuismateriaal. Dit zal van toepassing zijn voor pilot experimenten en voor de validatie studies. Voor overige experimenten kan nu nog niet voorzien worden of dit mogelijk is. We streven ernaar om ex vivo materiaal te gebruiken als duidelijk is dat de onderzoeksvraag op vers weefsel moet worden getest en dat slachthuismateriaal geen optie is. Aan het gebruik van materiaal afkomstig uit een andere proef of dieren die voor onderwijsdoeleinden zijn gebruikt zitten wel beperkingen. Dieren kunnen een ziekte historie hebben die niet samen gaat met onze vraagstelling. Dit kan tot gevolg hebben dat voor het beantwoorden van de onderzoeksvraag geen gebruik gemaakt kan worden van dieren afkomstig uit andere proeven. Voor elke onderzoeksvraag zullen we in kaart brengen in welke tijdsperiode een dier nodig is voor de studie. Dit hangt o.a. af van de onderzoeksvragen die ons door onze klanten (universiteiten, overheid en business partners) worden voorgelegd). Wij inventariseren dan in eerste instantie of binnen het tijdbestek waarin de studie kan worden uitgevoerd, een dier beschikbaar komt uit onderwijs of ander onderzoek. Hiervoor hebben wij een netwerk opgezet van onderzoekers in Nederland die met varkens werken. Alleen indien dit niet het geval is, zal worden overgegaan tot het aankopen van een dier. Ook zullen we altijd proberen om dit te combineren met vraagstellingen voor andere organen; we zullen dus nooit een dier opofferen en dan maar gebruik maken van 1 orgaan, maar altijd het beschikbare materiaal optimaal benutten. Factoren die hierbij een rol spelen zijn oa de werkzaamheid van de te testen stof en de hieraan gekoppelde uitleesparameters.

Daarnaast is het zo dat er bijvoorbeeld voor de darm studies wel 96 verschillende condities getest kunnen worden op darmweefsel van 1 dier, omdat het weefsel over verschillende vials wordt verdeeld. Tot slot werken we ook toe naar het opzetten van een vitale humane tissue supply chain, waarbij het de bedoeling is dat dit zelfde type onderzoek gedaan kan worden met humane weefsels (afval materiaal uit OKs en/of afgekeurde donororganen). Dit is nu nog niet gerealiseerd en daarom is de huidige aanvraag van belang om de ex vivo modellen op te zetten en te valideren. Dit is weergegeven in de D van de bijlage.

5. Voor de darm wordt er ongeveer 10-12 studies per jaar uitgevoerd, dit aantal is bekend uit voorafgaande jaren.

Aan de hand van de onderzoeksstrategie is het aantal dieren nogmaals aangegeven.

Voor darm:

Verder bouwen aan bestaande methodologische, fysiologische en farmacokinetische kennis mbv ex vivo experimenten om zo meer kennis te genereren of (dys)functie van de verschillende compartimenten van de darm in dierlijk weefsel. Dit zal gecombineerd worden met experimentele studies. Hiervan weten we dat er 10-12 dieren per jaar, 60 in 5 jaar gebruikt kunnen worden.

Voor de nier gaan we de functie uitlezen dmv glomerulaire filtratie snelheid (GFR). Deze wordt berekend uit de inuline klaring, wat tot nu toe wordt gezien als de gouden standaard meting voor nierfunctie. Omdat het uiteindelijk doel is PK studies uit te voeren in zieke organen willen we gezonde vs zieke nieren vergelijken. We gaan ziekte in de nier induceren door deze ex vivo te behandelen met een toxine of ischemie/reperfusie induceren. Voor zieke nieren gaan we uit van een GFR die 50% lager ligt dan de normale functie. Voor deze pilot houden we rekening met een standaard deviatie van 30%.

Met een alpha van 0.05 en een power van 0.8 komen we dan op een sample size van 6 dieren om voor het pilot experiment om GFR verschillen te kunnen detecteren. We willen het effect in zowel een gezonde als zieke omgeving bestuderen. Om effect te kunnen zien in een zieke omgeving komt men op een aantal van 6 dieren uit (6 gezond vs 6 ziek). Wij willen er echter uiteindelijk naar toe om in 1 nier eerst de klaring van de stof in de gezonde situatie bestuderen ex vivo, daarna ex vivo schade induceren en vervolgens in diezelfde kapotte nier nogmaals de klaring bestuderen. We hopen daarbij dat de diervariatie uitermate klein is dat er met een minimum aantal dieren gewerkt kan worden. Aan de hand van de onderzoeksstrategie is het aantal dieren nogmaals aangegeven.

Voor lever en nier:

1). opzetten mogelijkheid om ex vivo nier en lever functie en farmacokinetiek te kunnen bestuderen in dierlijk weefsel. Hierbij zal gekeken worden naar functionele parameters, als die vergelijkbaar zijn met gegevens bekend uit de transplantatie wereld kunnen we ook farmacokinetische studies uitvoeren in een werkend orgaan. Dit zal gecombineerd worden met 2). Uitvoeren van validatie studies in dierlijk weefsel waarin klaring van een bekende stof wordt getest ex vivo.

In de pilot (1+2), willen we het effect van een bekende stof vergelijken in een zieke vs een gezonde omgeving. We komen dan uit op 6 vs 6 dieren. Uit deze proef moet ook blijken hoe groot de variatie tussen de dieren onderling is en kunnen we in beeld brengen wat de correlatie orgaan-functie/farmacokinetiek is. Theoretisch zouden we voor alle validatie en experimentele studies gebruik kunnen maken van 6 vs 6 dieren. We verwachten echter dat de correlatie functie/farmacokinetiek erg sterk is. Daarnaast willen we in het orgaan van 1 dier eerst meten in het gezonde orgaan, daarna schade induceren en in hetzelfde orgaan nogmaals meten. Hierdoor kunnen we binnen 1 dier twee situaties na bootsen. Er zouden dan per studie 6 dieren nodig zijn. Bij 10 studies per jaar zou dit uitkomen op 60 dieren per jaar en 300 per

5 jaar. Vanwege de looptijd van 1 experiment en de bijbehorende voorbereidingen en uitwerkingen, wordt geschat dat er per jaar gemiddeld 12 experimenten uitgevoerd kunnen worden. Om de vervolgvragen te kunnen beantwoorden: (4). Testen van experimentele onbekende stoffen (voedingsstoffen/medicijnen) in ex vivo setup met varkensmateriaal verkregen uit slachthuismateriaal of, indien noodzakelijk, uit voor proef opgeofferd dier) zal de farmacokinetiek altijd worden gekoppeld aan functie, waardoor er een uitspraak gedaan kan worden over deze relatie. Als deze koppeling heel duidelijk is zal dit ook in de humane situatie worden bestudeerd.

De darm en lever/nier experimenten zullen zoveel mogelijk gecombineerd worden. We verwachten dus een maximaal aantal van 120 + 12 dieren te gebruiken.

Factor dier: We realiseren ons dat er variatie tussen de dieren bestaat en willen ook in de pilot fase in beeld brengen hoe groot de variatie is in de gezonde en zieke situatie. We verwachten echter dat we altijd in staat zullen zijn om de klaringseffecten te koppelen aan functionele parameters en zo toch in staat zullen zijn om al door 1 dier te gebruiken een uitspraak te kunnen doen. Deze bevindingen zullen worden vergeleken met de humane data waardoor we ook een inschatting kunnen maken over de translationaliteit en de robuustheid van het model. De methode zal robuust genoeg moeten zijn om gezond en gradaties van ziekte te kunnen onderscheiden. Daarnaast is het uiteindelijke doel om dit toe te passen in mens waarbij we ook variatie verwachten. Daarom zullen we altijd orgaan functie koppelen aan kinetiek. De data die nu in het varken wordt gegenereerd zal gebruikt worden om het humane materiaal zo efficiënt mogelijk te kunnen gebruiken en uiteindelijk zal ook de overstap worden gemaakt naar humaan materiaal. Dit is ook weergegeven in D in de bijlage.

6. Voorafgaand aan het experiment zal worden geïnventariseerd welk type materiaal nodig is en waar dit beschikbaar is. Ten eerste proberen zo veel mogelijk gebruik te maken van materiaal afkomstig uit andere experimenten of van slachthuismateriaal. Voor elke onderzoeksvraag zullen we in kaart brengen in welke tijdsperiode een dier nodig is voor de studie. Dit hangt o.a. af van de onderzoeksvragen die ons door onze klanten (universiteiten, overheid en business partners) worden voorgelegd). Wij inventariseren dan in eerste instantie of binnen het tijdbestek waarin de studie kan worden uitgevoerd, een dier beschikbaar komt uit onderwijs of ander onderzoek. Hiervoor hebben wij een netwerk opgezet van onderzoekers in Nederland die met varkens werken. In Nederland zijn initiatieven opgezet waarbij de vergunningsinstellingen aan het inventariseren zijn welke proeven er plaatsvinden en welk restmateriaal beschikbaar is voor onderzoek. We hebben aangegeven dat we hier in mee willen doen en belangstelling hebben voor het gebruik van restmateriaal. Momenteel gaat dit vnl via de UU en het UMC Utrecht, mede om logistieke redenen (het materiaal moet zo snel mogelijk naar TNO Zeist vervoerd worden, langere reistijd heeft effect op de vitaliteit en daarmee de bruikbaarheid van het orgaan). Wel zullen we gebruik maken van de kennis uit de transplantatie wereld om dit proces te verbeteren waardoor we ook gebruik zouden kunnen maken van organen die een langere reistijd hebben. Alleen geen andere opties beschikbaar zijn, zal worden overgegaan tot het

aankopen van een dier. Ook zullen we altijd proberen om dit te combineren met vraagstellingen voor andere organen; we zullen dus nooit een dier opofferen en dan maar gebruik maken van 1 orgaan, maar altijd het beschikbare materiaal optimaal benutten. Het type varken speelt hierbij wel een rol. Voor darm experimenten kan gebruik gemaakt worden van bijna alle typen varken (afhankelijk van de vraagstelling). Voor de lever en nier perfusie experimenten is het nu nog niet mogelijk om gebruik te maken van bijv minipigs om de perfusie systemen zijn ontworpen voor humane organen en dus ook alle aansluitingen zo zijn gemaakt dat ze alleen passen op organen van vergelijkbare grootte (varken van minimaal 60 kilo). Als aansluitingen aangepast zouden kunnen worden kunnen we ook gebruik maken van kleiner materiaal. Dit is iets wat samen met de perfusie partner, OrganAssist, uitgezocht moet worden. Dit is ook weergegeven in B van de bijlage.

7. We verwachten dat de te testen stoffen, die waarschijnlijk mede worden aangeleverd door de voedingsindustrie of de farmaceutische industrie, al zover ontwikkeld en onderzocht zijn dat deze geen nadelige effecten zullen hebben op het dier. Deze medicijnen of voedingsmiddelen/supplementen zullen al zover doorontwikkeld zijn dat ons model de stap is voordat de stoffen daadwerkelijk in klinische trials zullen worden getest, er zullen dus al veel eigenschappen van deze stof bekend zijn. Hoewel dit niet wordt verwacht, zal bij optreden van onbekende bijwerkingen die een negatieve invloed hebben op het welzijn van het dier de toediening direct worden gestopt. Dit is ook weergegeven in bijlage D.

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

- Datum: **20-2-2017**

- Gestelde vraag/vragen

Naar onze mening zijn de vragen adequaat beantwoord. We vinden echter dat de verwerking in het projectvoorstel geen recht doet aan de kwaliteit van de antwoorden. Dit omdat de antwoorden niet altijd op meest passende plaats in de vergunningaanvraag zijn geplaatst. Ook zijn er nog te veel vaagheden en inconsequenties. We verwachten bijvoorbeeld dat het gebruik van alternatieven met meer stelligheid vastgesteld wordt (geen termen als "intentie" en "proberen"). De NTS strookt niet overal met de overige documenten, bijvoorbeeld wat betreft de benodigde aantallen dieren. Wanneer deze punten in acht worden genomen, staan wij positief tegenover het projectvoorstel. Wij verzoeken u een verbeterde versie aan te leveren, waarna wij, na een schriftelijke consultatie van alle leden, tot een advies over zullen gaan.

- Antwoord:

Dank u voor uw positieve reactie. Naar aanleiding van uw opmerkingen hebben wij de antwoorden op de vragen zodanig in de projectaanvraag ingepast, dat de opbouw logisch is. Tevens hebben wij vaagheden mbt gebruik van alternatieven met meer stelligheid omschreven.

Ten aanzien van de aantallen dieren, realiseren wij ons nu dat wij in onze eerdere beantwoording inconsequent hebben doorgerekend, wat heeft geleid tot een discrepantie tussen de NTS en de overige documenten.

De berekening voor het maximaal aantal te gebruiken dieren is hieronder daarom nogmaals samengevat:

Voor de berekening van het aantal benodigde dieren wordt uitgegaan van de berekening van dieren, nodig voor lever en nier onderzoek. Het benodigde darmweefsel wordt uit dezelfde dieren gehaald, waardoor voor dit deel van het onderzoek geen extra dieren nodig zijn.

Voor lever en nieronderzoek zijn voor een eerste pilot 12 dieren nodig (zie onderbouwing in de aanvraag). Voor het beantwoorden van vervolgvragen zijn 6 varkens per experiment nodig (zie onderbouwing in de aanvraag). Naar verwachting zijn 15 tot 20 experimenten met 6 varkens nodig voordat de volledige overstap naar humaan materiaal gemaakt kan worden. Omdat de experimenten arbeidsintensief zijn kunnen er maar max 2 dieren per maand worden ingezet (dus max 24 per jaar)=120 per 5 jaar.

Uiteraard zal, indien we in de loop van het project voldoende kennis hebben opgedaan om de overstap naar humaan materiaal eerder te maken, de overstap eerder worden gemaakt.

Bij onderdeel A in de Bijlage is bovenstaande verduidelijkt waar nodig.

De NTS is hiermee weer in lijn met de aanvraag. Tevens hebben wij, op advies van de IvD, de NTS in eenvoudiger bewoordingen beschreven.

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

- Aard expertise: **n.v.t.**
- Deskundigheid expert: **n.v.t.**
- Datum verzoek: **n.v.t.**
- Strekking van het verzoek: **n.v.t.**
- Datum expert advies: **n.v.t.**
- Advies expert: **n.v.t.**

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is. **Ja, het is vergunningplichtig. Voor het bestuderen van functie en farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek krijgen varkens stoffen toegediend en worden de dieren doodgemaakt om het de organen te bestuderen, dit betreft dierproeven in de zin der wet.**

Hier is geen discussie over geweest.

Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies.

1. De aanvraag betreft een **nieuwe** aanvraag.
2. Is de DEC competent om hierover te adviseren? **Ja, de DEC is competent om hierover te adviseren.**
3. 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. **Er zijn geen DEC-leden uitgesloten. Daar was geen aanleiding toe.**

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*). **Ja, dit is naar ons idee een toetsbare aanvraag met voldoende samenhang. Het combineren van functie en farmacokinetiek van stoffen in lever, nier en darm in een projectaanvraag biedt de mogelijkheid om kennis en materiaal optimaal te benutten. Het betreft meerdere dierproeven met een vergelijkbaar doel en een vergelijkbare opzet. Het onderzoek is in een context geplaatst van in vitro en ex vivo onderzoek op slachthuismateriaal, waarbij duidelijk is gemaakt wanneer proefdieren noodzakelijk zijn en welke strategieën worden toegepast om de verschillende stappen te zetten.**
2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Wet Natuurbescherming). **Er is bij ons geen tegenstrijdige wetgeving bekend die van toepassing zou zijn.**
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 DEC onderschrijft dat dit project zowel fundamenteel onderzoek als translationeel of toegepast onderzoek kan betreffen.**

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 doel van het onderzoek is het bestuderen van functie, kinetiek en metabolisme van stoffen in een geïsoleerd orgaan. Het gaat hierbij specifiek om first-pass organen zoals darm, lever en nier. Dit zal in preklinische setting plaatsvinden om de methode op te zetten en te valideren. Het achterliggende doel is om de verworven kennis uiteindelijk toe te passen op humaan materiaal. De onderzoeker heeft in de beschrijving voldoende duidelijk gemaakt dat de doelstelling in de beschreven setting haalbaar is en dat translatie naar relevante informatie voor de mens een goede kans van slagen heeft. De DEC vindt onderzoek doen naar bovenstaande doelen essentieel omdat op deze manier de verschuiving naar meetmethoden met hoge translatiewaarde en minimaal diergebruik mogelijk worden gemaakt.**
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 zijn grote aantallen darm-, lever-, en nierpatiënten, en maximaal 120 varkens die gebruikt worden als proefdier. Voor de patiënten gaat het om een betere kwaliteit van leven door goed werkende therapieën en vermindering van bijwerkingen. Voor de varkens gaat het om hun leven en soms licht ongerief door bijvoorbeeld een naaldprik. Daarnaast heeft de maatschappij als geheel belang bij deze experimenten. Goed voorspelbare modellen zullen leiden naar een kortere ontwikkelingstijd van medicijnen, wat kan leiden tot goedkopere medicatie. Ook proefdieren in het algemeen hebben een belang. Ex vivo experimenten**

met restmateriaal of slachthuismateriaal kunnen leiden tot vermindering van het aantal dierproeven. Betere voorspelbare modellen kunnen bijdragen aan verfijning en vermindering van dierproeven.

6. Is er aanleiding voor de DEC om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken? **Nee.**

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe. *(Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C5).* **De onderzoeksgroep geeft blijk van voldoende kennis en ervaring op het gebied van farmacokinetiek en metabole ziekten. De aanvrager geeft bovendien aan nauw in contact te staan met andere deskundigen. Bovendien geeft de aanvrager blijk van samenwerking en kennisdeling binnen en buiten het instituut.**
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 haalbaarheid is voldoende beargumenteerd door de aanwezige expertise en interne en externe samenwerking. Ook geeft de aanvrager dat de onderzoeksgroep ruime ervaring heeft met het opzetten van een ex vivo model. De beschreven strategie geeft de DEC voldoende informatie om te verwachten dat er haalbare doelen zijn gesteld, juist ook omdat er voor de verschillende studies verschillende stadia van onderzoek zijn beschreven met voor de IvD goed toetsbare go/no-go-momenten.**

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).* **De varkens zijn niet gefokt als proefdier. Bij de diersoort varken past dit binnen de richtlijn.**

- ☐ 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 dieren worden volgens de richtlijn gehuisvest en verzorgd.**

11. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). **Het cumulatieve ongerief is naar het idee van de DEC goed ingeschat. Een klein aantal dieren krijgt eenmalig een injectie. Het merendeel krijgt terminale anesthesie.**
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*). **Dieren worden beperkt in hun autonomie doordat zij zonder dat zij daar voordeel van hebben stoffen toegediend krijgen en doordat zij gedood worden.**
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*). **N.v.t.**
- 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 onderzoeker maakt duidelijk dat er geen alternatieven zijn voor complexe organen als nier, darm en lever. Ook is er weinig humaan materiaal beschikbaar om ex vivo metingen op te doen. De DEC onderschrijft beide beperkingen en ziet het gebruik van het varken als een noodzakelijke tussenstap om voortgang te boeken in het onderzoek naar functie, kinetiek en metabolisme van stoffen in een geïsoleerd orgaan.**
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*). **Na verhelderende antwoorden op vraag 5 en een latere aanpassing is de strategie voor het te berekenen aantal dieren voor de DEC helder. De DEC benadrukt ook dat de onderzoeker oog heeft voor het optimaal benutten van het dierlijk materiaal. Het onderzoek draagt bij aan vermindering en maakt gebruik van slachtafval en restmateriaal waar mogelijk. Ook levert het onderzoek restmateriaal aan andere onderzoekers. Hiervoor is een goed netwerk aanwezig.**
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 is van mening dat het project in overeenstemming is met de vereisten ten aanzien van de verfijning van dierproeven. Het effect van de stof in het lichaam wordt niet in vivo bekeken in het hele dier (wat ongerief kan veroorzaken), maar in het orgaan van een dier onder terminale anesthesie (grootste deel). Het doden van de varkens is noodzakelijk voor het behalen van de doelen. Het dier komt niet meer bij, waardoor het ongerief bij de meeste dieren terminaal blijft. Bij een klein deel wordt een injectie gegeven op de best mogelijke manier.**
17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Licht uw beoordeling toe. **N.v.t.**

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3; zie bijlage I voor voorbeeld*). **Qua geslacht wordt gekeken welke dieren voorradig zijn. Zo wordt optimaal gebruik gemaakt van beschikbare proefdieren en restmaterialen.**
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*). **Varkens worden gedood volgens de richtlijn. Dit is noodzakelijk om de organen te isoleren en voorkomt dat de werking van stoffen in grotere aantallen levende dieren bestudeerd moet worden, wat het totale ongerief zou doen toenemen.**
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? **De DEC is van mening dat de NTS een goede weergave is van het project en dat deze begrijpelijk is geformuleerd.**

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.A*). **De centrale morele vraag is: mag je 120 varkens houden en doden, en een klein deel daarvan een injectie geven, om meer te weten over dysfunctie van darm, nier en lever, ten behoeve van de ontwikkeling van therapieën voor mens-patiënten?**
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*). **Het aantal patiënten met metabole complicaties blijft stijgen en zo ontstaat er een steeds grotere behoefte aan nieuwe medicatie voor deze patiënten. Deze patiënten kunnen ernstig lijden door het falen van organen. Lever, nier en/of darm kunnen aangedaan zijn. Het gaat dus om grote belangen van grote aantallen patiënten met mogelijk ernstige aandoeningen. Bij de dierproeven en bij de verzorging, behandeling en huisvesting van de dieren wordt adequaat invulling gegeven aan de vereisten op het gebied van vervanging, vermindering en verfijning van dierproeven. Desondanks zullen er**

binnen dit project maximaal 120 varkens terminaal ongerief ondervinden, en sommige licht ongerief, door respectievelijk het overlijden en door injecties.

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 acht het ethisch toelaatbaar om 120 varkens te houden en te doden, en een klein deel daarvan een injectie te geven, om meer te weten te komen over dysfunctie van darm, nier en lever, ten behoeve van de ontwikkeling van therapieën voor de mens. Er is voldoende kennis en kunde aanwezig bij de instelling en in het netwerk daaromheen om dit onderzoek goed te doen. Alternatieven (voornamelijk het gebruik van slachtafval) zijn opgenomen in de strategie, 3V-methoden. Het ongerief is nooit meer dan licht. De DEC acht het haalbaar dat door het uitvoeren van deze studies informatie wordt gegenereerd in een preklinische setting, zodat in de nabije toekomst de onderzoeksmethodiek en de validatie-informatie bruikbaar is om toe te passen op humaan materiaal. Dit alles brengt de DEC tot het oordeel dat het gebruik van de dieren in dit project gerechtvaardigd is.**

E. Advies

1. Advies aan de CCD

☒ De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

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

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

Het advies is unaniem.

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*).

De DEC was na lezing van de eerste versie van het projectvoorstel al positief over de strekking van het onderzoek en het gebruik van alternatieven en 3V-methoden. Echter, zij had een aantal vragen die het maken van een precieze afweging bemoeilijkten. Het ging hierbij vooral om hoe geborgd was dat alternatieven benut werden, om haalbaarheid, maar ook om de precieze vaststelling van het aantal benodigde dieren. De uitleg door de aanvrager is voldoende gebleken en heeft niet tot nieuwe discussie geleid. Ook maakte de letterlijke verwerking van de antwoorden in de projectaanvraag het wegen moeilijk. De DEC heeft gevraagd aan de onderzoeker om de aanvraag te herzien en de antwoorden niet integraal op te nemen in de aanvraag.