



> 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

AVD5010020172207

**Bijlagen**

1

Datum 10 juli 2017

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 15 juni 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Het bepalen en valideren van de effectiviteit van nieuwe geneesmiddelen en het onderzoeken van de mechanismen die betrokken zijn in het ontstekings- en fibrose proces m.b.v. in vivo fibrose modellen." met aanvraagnummer AVD5010020172207. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 5 juli 2017 heeft u uw aanvraag aangevuld. Dit betrof een nieuwe NTS en de onderbouwing voor de te gebruiken geslachten.

### **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.

De algemene voorwaarde(n) zijn opgenomen op grond van artikel 1d lid 4, artikel 10a1 lid 2, artikel 10 lid 2 en/of artikel 10a3 van de wet.

U heeft aangegeven dat over het gehele project de ratio mannelijke en vrouwelijke dieren gelijk zal zijn.

U kunt met uw project "Het bepalen en valideren van de effectiviteit van nieuwe geneesmiddelen en het onderzoeken van de mechanismen die betrokken zijn in het ontstekings- en fibrose proces m.b.v. in vivo fibrose modellen." starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 januari 2018 tot en met 31 december 2023.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

**Beoordeling achteraf**

Na afloop van het project zal er een beoordeling plaatsvinden, zoals bedoeld in artikel 10a1, lid 1d en lid 3, in de wet. Meer informatie over de eisen bij een beoordeling achteraf vindt u in de bijlage.

Er is sprake van ernstig ongerief.

**Datum:**

10 juli 2017

**Aanvraagnummer:**

AVD5010020172207

**Procedure**

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-TNO gevoegd. Dit advies is opgesteld op 14 juni 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.

**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.

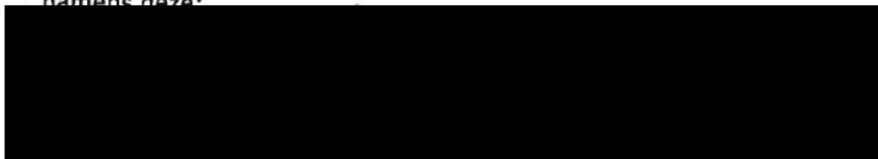
Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op

<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](http://www.centralecommissiedierproeven.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze:

**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 2023, voor het project "Het bepalen en valideren van de effectiviteit van nieuwe geneesmiddelen en het onderzoeken van de mechanismen die betrokken zijn in het ontstekings- en fibrose proces m.b.v. in vivo fibrose modellen." met aanvraagnummer AVD5010020172207, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-TNO. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Onderzoeker. Voor de uitvoering van het project is Research assistant verantwoordelijk.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 15 juni 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 15 juni 2017;
  - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 5 juli 2017;
  - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 14 juni 2017, ontvangen op 15 juni 2017.
  - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 5 juli 2017

**Aanvraagnummer:**  
AVD5010020172207

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
<b>3.4.4.1 Longfibrose in muis of rat</b>				
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> ) /	6.000	1% Ernstig 99% Matig	
	Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> ) /	1.000	1% Ernstig 99% Matig	
<b>3.4.4.2 Nierfibrose in muis of rat</b>				
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> ) /	3.000	1% Ernstig 99% Matig	
	Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> ) /	800	1% Ernstig 99% Matig	
<b>3.4.4.3 Huidfibrose in muis of rat</b>				
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> ) /	6.000	1% Ernstig 99% Matig	
	Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> ) /	1.000	1% Ernstig 99% Matig	
<b>3.4.4.4 Leverfibrose in muis of rat</b>				
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> ) /	6.000	1% Ernstig 99% Matig	



**Aanvraagnummer:**  
AVD5010020172207

	Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> ) /	1.000	1% Ernstig 99% Matig	
--	---------------------------------------	-------	-------------------------------	--

### **Voorwaarden**

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

In dit project worden dierproeven toegepast die vallen in de categorie ernstig volgens artikel 10b van de wet en wordt daarom voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk april 2024 plaatsvinden. Er zal dan beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt. Daarnaast wordt bekeken of de schade die de dieren hebben ondervonden, het aantal en soorten proefdieren en de ernst de dierproeven conform de vergunning waren.

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

Gedurende de looptijd van de vergunning, koppelt de aanvrager aan de CCD terug welke experimenten; welke type dierproef; de wijze van uitvoering; welke diersoort en bijbehorend ongerief is uitgevoerd onder deze vergunning. Deze terugkoppeling moet uiterlijk 31 januari door de CCD ontvangen zijn en rapporteert over het afgelopen kalenderjaar (1 januari - 31 december). Ook wanneer er geen dierstudies zijn uitgevoerd wordt dit gerapporteerd. De CCD kan op basis van deze terugkoppeling aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken. Wanneer u overtuigend en onbetwistbaar kan aantonen dat er geen gegevens over de geteste stof kunnen worden vrijgegeven omdat de opdrachtgever deze als vertrouwelijke informatie heeft geclassificeerd kunt u deze informatie buiten de rapportage houden.

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:**  
AVD5010020172207

Over de hele aanvraag worden mannelijke en vrouwelijke dieren in evenredige aantallen gebruikt. Zo doende wordt voorkomen dat surplusdieren in voorraad moeten worden gedood. De aanvrager mag de uitkomsten van de eerste onderzoeken waarbij beide geslachten gebruikt worden rapporteren aan de CCD. De uitkomst van deze eerste onderzoeken kan voor de CCD aanleiding geven om bovenstaande voorwaarde van gelijk gebruik van beide geslachten, bij deze projectvergunning te wijzigen of in te trekken.



**Aanvraagnummer:**

AVD5010020172207

## 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:**  
AVD5010020172207

kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

#### **Einde van een dierproef**

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

#### **Beoordeling achteraf**

Volgens artikel 10a1, lid 1d en lid 3 van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld worden.

## **A. Algemene gegevens over de procedure**

1. Aanvraagnummer :
2. Titel van het project : Het bepalen en valideren van de effectiviteit van nieuwe geneesmiddelen en het onderzoeken van de mechanismen die betrokken zijn in het ontstekings- en fibrose proces m.b.v. in vivo fibrose modellen.
3. Titel van de NTS : Het bepalen en valideren van de effectiviteit van nieuwe geneesmiddelen en het onderzoeken van de mechanismen die betrokken zijn in het ontstekings- en fibrose proces in diermodellen

### 4. Type aanvraag:

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

### 5. Contactgegevens DEC

Naam DEC : DEC TNO

Telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]

Emailadres contactpersoon: [REDACTED]

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

- ☒ ontvangen door DEC: 6-2-2017
- ☐ aanvraag compleet:
- ☒ in vergadering besproken: 14-2-2017
- ☐ anderszins behandeld:
- ☐ termijnonderbreking(en) van / tot : van 20-2-2017 tot 26-5-2017
- ☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermin met max. 15 werkdagen:
- ☒ aanpassing aanvraag: 26-5-2017
- ☒ advies aan CCD: 14-6-2017

### 7. De aanvraag is afgestemd met de IvD en deze is hiermee akkoord.

### 8. Eventueel horen van aanvrager

- Datum: n.v.t.
- Plaats: n.v.t.
- Aantal aanwezige DEC-leden: n.v.t.
- Aanwezige (namens) aanvrager: n.v.t.
- Gestelde vragen en verstrekte antwoorden: n.v.t.
- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag. n.v.t.

### 9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum vragen: 20-2-2017
- Datum antwoord: 26-5-2017
- Gestelde vragen en antwoorden: Zie hieronder

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

**Vraag 1:** Het hoofddoel is ons helder, evenals hoe u te werk gaat bij het testen van nieuwe anti-fibrotische therapieën. Echter, in de beschreven strategie (3.4.1.) missen wij informatie over de strategie met betrekking tot de resterende studies die onder deze projectaanvraag zullen worden uitgevoerd. Hoe bepaalt u waar u aan gaat werken bij de onderdelen 3 en 4 (3.4.3)? Het is voor ons van belang om inzicht te hebben in het grotere verhaal: hoe bepaalt u waar de prioriteiten liggen in het onderzoek en wat de prioriteiten zijn voor de periode (5 jaar) van deze vergunning? Wat is de voorgeschiedenis, wat zijn de knelpunten in het fibroseonderzoek en hoe passen de onderzoeksvragen bij 3 en 4 hierin?

De modellen die we momenteel gebruiken (in deze aanvraag) zijn gekozen op basis van de volgende argumenten:

- In de literatuur zijn deze modellen het meest gebruikt
- Deze modellen zijn door de farmaceutische industrie het meest geaccepteerd voor de ontwikkeling van geneesmiddelen. De FDA eist dat nieuwe geneesmiddelen getest zijn voordat deze geaccepteerd worden op de markt.

Knelpunten in het fibroseonderzoek:

- De readout parameters zijn niet optimaal voor gebruik in zowel een profylactische als therapeutische test setting
- Hoe translationeel zijn onze modellen

TNO wil graag deze modellen verbeteren teneinde tot goed gevalideerde modellen te komen. De prioriteiten liggen op de volgende punten:

- Reproduceerbaarheid van de verschillende modellen verbeteren
- Welke uitlees parameters wordt er gebruikt
- Welk deel vd pathways in de patiënt worden gerepresenteerd in de modellen
- Hoe kunnen modellen het best gebruikt worden in een therapeutische setting (bijvoorbeeld het gebruik van zwaar water in therapeutische setting)

In het verleden hebben we al een aantal van deze punten geadresseerd en de komende 5 jaar willen we ons in het onderzoek vooral verder richten op:

- Het beter begrijpen vd fibrose processen die een rol spelen in deze modellen en deze processen vergelijken met de processen in de patiënt (systeem biologische aanpak; vergelijk met humaan materiaal)
- Het optimaliseren van read-out parameters zodat op een effectieve manier zowel profylactische als therapeutische protocollen getoetst kunnen worden

**Vraag 2:** Voor de pathways wordt gebruik gemaakt van transgene muizen. Kunt u meer inzicht geven in wanneer het van belang is om deze dieren te gebruiken? Betreft het hier bestaande transgene lijnen? En hebben deze dieren ongerief als resultaat van de genetische wijziging?

Het gebruik van transgene muizen kan inzicht geven in de processen die betrokken zijn bij fibrose omdat specifieke pathways aan / uit gezet zijn.

De toepassing zal vooral gericht zijn om meer inzicht in de fibrose processen te krijgen en niet specifiek om deze te gebruiken voor het uittesten van compounds. Op dit moment zullen we alleen gebruik maken van bestaande transgene muizenlijnen, het ongerief van transgene deze dieren zal niet meer zijn dan het in de aanvraag geclassificeerde maximale ongerief van 3 (cumulatief gezien).

**Vraag 3:** Wij begrijpen van de IvD dat u veel energie steekt in literatuuronderzoek. Kunt u ons inzicht geven in uw strategie hieromtrent en uw bevindingen? En concreet: u geeft aan dat de genoemde modellen de beste zijn voor uw onderzoek. Met welke modellen vergelijkt u deze modellen? Is dit ook afgezet tegen in vitro modellen?

Literatuur onderzoek is een van de bronnen waaruit we informatie putten betreffende de verschillende fibrose modellen. Zo heeft een uitgebreid literatuur onderzoek op het gebied van longfibrose ons doen besluiten te stoppen met de intra-tracheale toediening van bleomycine en over te stappen op oropharygeale toediening. Helaas hebben we onder andere n.a.v. een systematische review op het gebied van longfibrose geleerd dat veel van de literatuur op het gebied van de verschillende modellen soms grote omissies vertoont (zo wordt het optreden van sterfte tijdens de proef vaak bijzonder slecht gerapporteerd) waardoor studies roodkleuriger voorgesteld worden dan dat onze ervaringen zijn. Daarom putten wij ook sterk uit ons grote netwerk van in vivo experts binnen de bedrijven. Onze ervaringen zijn dat deze experts vaak veel kritischer zijn t.o.v. de modellen en eventuele positieve therapie effecten dan de academische wereld en vaak zeer bereidwillig zijn om tot in detail over de voors en tegens van de modellen te discussiëren.

Er zijn verschillende modellen in de literatuur beschreven waarbij fibrose chirurgisch, chemisch, genetisch of mechanisch wordt geïntroduceerd in de verschillende organen.

Wij hebben bij TNO ook verschillende van deze modellen uitgetest (zoals het bileduct ligatie model of MCD dieet geïnduceerde fibrose model (methionine-choline deficiënte- dieet) om leverfibrose te induceren; het 5/6 massa reductie of ischemi model (voor nier fibrose) en het brandwonden of wondheling (punch) model voor huidfibrose).

De modellen die we nu aanbieden worden in het fibrose veld het meest frequent gebruikt en weerspiegelen de histopathologie die gelijk is aan die van bijvoorbeeld IPF of systemische sclerose patiënten. Tevens zijn de inductie en uitleesparameters van deze modellen heel goed reproduceerbaar gebleken. Ook belangrijk is dat deze modellen al



bijgedragen hebben aan PFDA goedkeuring van bestaande therapiemogelijkheden en daarmee een bijdrage kunnen leveren bij het valideren van nieuwe therapieën. Het translationele aspect is voor TNO heel belangrijk, hetgeen geldt voor zowel in-vivo modellen als in-vitro modellen. Daarom hebben we naast het optimaliseren / valideren van in-vivo modellen ook een programma op het gebied van in-vitro modellen.

Bijvoorbeeld het ontwikkelen van een 3D voorspellend in-vitro model voor leverfibrose.

Ook voor de in-vitro modellen willen we weten welk deel van de processen in de patiënt representatief is, zodat we in de toekomst op basis van de te testen target kunnen besluiten of de studie in-vitro of in-vivo uitgevoerd zal moeten worden.

**Vraag 5: Bij punt 3.2 vermeldt u dat het er subdoelen in het project zijn geïntegreerd, zoals het uittesten van positieve nieuwe controles. Waarom is dit een noodzakelijk doel?**

Positieve controles bij het testen van nieuwe therapeutica worden gebruikt om vast te stellen of het model naar behoren heeft gefunctioneerd en dient als benchmark om het effect van de stof te vergelijken met bekende stoffen zodat bijvoorbeeld meerdere studies eenvoudiger met elkaar kunnen worden vergeleken. De twee op de markt toegelaten middelen (pirfenidone en nintedanib; alleen toegelaten voor longfibrose), hebben in onze modellen maar een zeer matig effect in zowel patiënt als in de muis. In het laatste geval is een andere referentiestof niet perse meer betrouwbaar. Om beter te kunnen benchmarken is er daarom een zeer grote behoefte aan (nieuwe) betrouwbaardere referentie compounds.

**Vraag 6: Kunt u toelichten hoe extra controles het ongerief kunnen verminderen vóór het bereiken of overschrijden van de humane eindpunten?**

Onze enige parameter die we in de looptijd van een studie kunnen monitoren, is het lichaamsgewicht van de dieren. Bleomycine of CCl4 geïnduceerde dieren verliezen in de eerste week gewicht, dit hoort bij het ziektemodel.

Na deze periode neemt het lichaamsgewicht weer langzaam toe. In een studie zijn er soms enkele dieren die gewicht blijven verliezen na de eerste week van inductie. Uit ervaring weten we dat als deze dieren een aantal dagen achter elkaar gewicht blijven verliezen het herstel niet aannemelijk zal zijn.

Door dagelijks deze dieren extra te monitoren (gewicht bepalen en tevens ook alle punten van het humane eindpuntformulier) kunnen we het verloop van het ziekteproces goed inschatten. We grijpen in voordat het dier andere duidelijkere symptomen van ongerief laat zien en halen dieren dan ook eerder uit een studie.

**Vraag 7: We vragen u de duur van de proef nader te preciseren. Is er bijvoorbeeld een maximum duur te noemen?**

Dit is gepreciseerd in de bijlagen. Over het algemeen zal een Longfibrose studie 3 weken duren, lever fibrose studie 4 weken, Nier fibrose studie 10 dagen en een huidfibrose studie 5 weken. Echter, als er bijvoorbeeld meer naar latere start van de therapie gekeken wordt of als er bijvoorbeeld naar effecten van stoffen op resolutie van fibrose gekeken zal worden, zal het mogelijk nodig zijn om de duur van de proef te verlengen met twee tot vijf weken.

**Vraag 8: U stelt dat behandeling met therapeutica maximaal matig ongerief zal opleveren. Waar bestaat dat ongerief uit? Kunt u dit toelichten?**

Ongerief door behandeling in onze modellen vindt voornamelijk plaats door bijvoorbeeld 2 x daags gavage, dagelijkse i.v. injectie of het plaatsen van een subcutane pomp.

**Vraag 9: In de bijlagen is sprake van een wisselende power (0,8 / 0,9). Wat is daar de reden van?**

In het algemeen wordt er voor het soort studies dat in deze aanvraag wordt besproken met een power van 0,8 gerekend. Soms wordt in overleg met de partner met wie we de studie uitvoeren besloten om de power naar 0,9 te verhogen. Dit kan bijvoorbeeld het geval zijn als de studie doorslaggevend is voor het doen van verdere investeringen in een onderzoeksprogramma. Hier geeft het hanteren van een hogere power een grotere kans dat de gekozen groepsgrootte de werkelijkheid inderdaad weergeeft en daarmee het besluit om een programma voort te zetten of te stoppen op een zo solide mogelijke basis wordt genomen.

**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)**

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.

3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is één DEC-lid, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering.

### **C. Beoordeling (inhoud):**

1. De aanvraag is toetsbaar en heeft voldoende samenhang. Het gaat om een project rond fibrose, met een duidelijke strategie en opzet. De samenhang bestaat eruit dat in diverse organen een vergelijkbaar fibroseproces kan ontstaan, waardoor het zinvol heeft dit proces in die organen in samenhang te bestuderen. De verschillende studies kunnen informatie opleveren die van nut zijn bij de overige studies. De DEC heeft om uitleg gevraagd over het includeren van een subdoel. Naar aanleiding van het uitgebreide antwoord op deze vraag begrijpt de DEC dat ook dit doel een directe invulling is van het eerste subdoel van de aanvraag, namelijk validatie en verdere optimalisatie van de modellen. De DEC concludeert dat studies naar het fibroseproces en therapieën in dit project worden gecombineerd met studies naar het verbeteren van modellen en uitleesparameters. Voor de DEC is juist deze combinatie een sterk element in dit projectvoorstel, omdat daarmee het werken voor opdrachtgevers gecombineerd wordt met een sterke eigen inhoudelijke kennis en de daadwerkelijke mogelijkheid om modellen te verbeteren. Zie hiervoor ook element 7 van het advies met betrekking tot de proefopzet en haalbaarheid. De DEC heeft ook uitgebreid gesproken over het samenbrengen van 4 fibrosemodellen in een aanvraag. Daarbij is de conclusie van de DEC dat het juist essentieel is om deze fibrosemodellen niet te scheiden omdat a) in mensen ook verschillende organen aangetast kunnen zijn en b) dit vermindering in het gebruik van dieren kan faciliteren. Dit omdat de modellen niet elk op zichzelf staan, maar net als bij mensen meerdere uitingen van fibrose kunnen laten zien.
2. Voor zover de DEC bekend, is er geen mogelijk tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de dierexperimenten in de weg zou kunnen staan.
3. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) sluit(en) aan bij de hoofddoelstelling(en). Er is sprake van translationeel/toegepast onderzoek, waarbij fibrose wordt bestudeerd in het dier in combinatie met de transleerbaarheid naar de mens.

### ***Belangen en waarden***

4. Het directe doel van het project is het testen van nieuwe anti-fibrotische therapiemogelijkheden in diverse fibrosemodellen die zo goed mogelijk bijdragen aan het voorspellen van klinische effectiviteit. Het uiteindelijke doel van het project is de ontwikkeling van nieuwe medicijnen tegen fibrose. De DEC TNO ziet deze samenhang duidelijk. Door het testen van therapieën, met daarbij extra aandacht voor de transleerbaarheid naar de mens, kan dit project bijdragen aan het daadwerkelijk ontwikkelen van goede medicijnen tegen fibrose. De DEC is daarom van mening dat er in voldoende mate een relatie is tussen het directe doel en het uiteindelijke doel.
5. De belangrijkste belanghebbenden in dit onderzoeksproject zijn: fibrosepatiënten en de muizen en ratten die als proefdier gebruikt worden. Daarnaast hebben opdrachtgevers belang bij



informatie over hun product. Ook de uitvoerende organisatie en de medewerkers die aan het onderzoek werken hebben een belang. Voor de patiënten zijn in het geding de waarden: leven, gezondheid, welzijn, activiteiten kunnen ontplooiën. Voor de proefdieren zijn in het geding de waarden: leven, gezondheid, welzijn en natuurlijk gedrag kunnen vertonen. Voor de opdrachtgevers en de uitvoerende organisatie gaat het voornamelijk om een economisch belang. Voor de betrokken medewerkers van TNO gaat het om hun professionele ontwikkeling.

6. De aanvrager geeft niet aan nadelige effecten op het milieu te verwachten. De DEC ziet geen aanleiding om aan te nemen dat zich toch nadelige effecten zullen voordoen. De dieren worden gehuisvest onder veilige condities en zullen geen gevaar opleveren voor het milieu. De vergunninghouder heeft geborgd dat potentieel milieubelastend afvalmateriaal op passende wijze wordt afgevoerd.

#### *Proefopzet en haalbaarheid*

7. De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn voldoende gewaarborgd en dragen eraan bij dat de doelstellingen behaald kunnen worden, dat aan de 3V-beginselen voldaan kan worden en dat voorkomen kan worden dat mens, dier en milieu negatieve effecten ondervinden als gevolg van de dierproeven. De aanvrager geeft aan bij 3.2 in het projectvoorstel dat de betrokken onderzoekers jarenlange ervaring hebben in het veld, inclusief een uitgebreid inhoudelijk netwerk waarbinnen wordt samengewerkt. In het antwoord op vraag 1 van de DEC aan de aanvrager komt bovendien een duidelijke focus naar voren die de haalbaarheid versterkt. Op grond van deze beschrijvingen ziet de DEC geen reden om te twijfelen aan de haalbaarheid zoals die is omschreven. Dit geldt ook voor de toepassing van de 3 V's, mede door het antwoord op de door de DEC gestelde vraag 3, naar literatuuronderzoek inzake modellen. Hier geeft de aanvrager aan goed op de hoogte te zijn van actuele literatuur, maar ook met een kritische houding staat tegenover de publicaties in dit veld. De aanvrager beschrijft derhalve een netwerk van experts waar men een reëler beeld vindt van de transleerbaarheid van de resultaten in dit veld.
8. Het project is goed opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters sluiten logisch en helder aan bij de aangegeven doelstellingen en de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De aanvrager beschrijft een uiteindelijk doel van de onderzoekslijn, maar specificeert ook concrete, haalbare doelen voor dit project: therapiemogelijkheden testen en daarbij modellen voor fibrose verbeteren wat betreft het voorspellen van klinische effectiviteit. De DEC neemt mee in haar weging dat een deel van het project ingegeven wordt door de mogelijkheid om het diermodel en daarmee de transleerbaarheid te verbeteren. Het antwoord getuigt van het feit dat deze verbeteringen daadwerkelijk haalbaar zijn en zelfs tot verbeteringen kunnen leiden in de internationale gemeenschap in handen van deze groep. De aanvrager stelt namelijk niet alleen modellen te verbeteren, maar de wegen te kennen om ook de acceptatie van dergelijke verbeteringen door de FDA te realiseren. Het antwoord van vraag 1 samen met vraag 3 geeft in

de ogen van de DEC een unieke combinatie weer van een onderzoeksomgeving waar het probleem wordt aangepakt met een multidisciplinair team met expertise en netwerk op het gebied van fibrose in vitro, in vivo, translatie en wet- en regelgeving.

#### *Welzijn dieren*

9. Er is geen sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren:
- ☐ Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)
  - ☐ Niet-menselijke primaten (10e)
  - ☐ Dieren in/uit het wild (10f)
  - ☐ Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I EU richtlijn)
  - ☐ Zwerfdieren (10h)
  - ☐ Hergebruik (1e lid 2)
  - ☐ Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
  - ☐ Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
  - ☐ Dodingsmethode niet volgens bijlage IV EU richtlijn (13c lid 3)
10. De dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de EU-richtlijn.
11. Het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Het is ingeschat als voor het gros van de dieren maximaal matig en voor een klein percentage ernstig (0,5%). De DEC is van mening dat deze percentages realistisch zijn ingeschat. De DEC heeft gediscussieerd over de vraag of extra monitoring dit percentage zou kunnen verlagen. In het antwoord op vraag 6 van de DEC maakt de aanvrager duidelijk dat de monitoring passend is ingeregeld om het percentage dieren dat ernstig ongerief ondergaat zeer laag te houden. Daarnaast maakt de aanvrager in het antwoord op vraag 2 van de DEC duidelijk dat er geen extra ongerief is inherent aan de foklijnen van transgene muizen.
12. De integriteit van de dieren wordt aangetast in die zin dat ze als proefdier worden gebruikt en worden gedood. Er is geen andere aantasting van de integriteit van het dier.
13. De humane eindpunten zijn in de bijlagen goed gedefinieerd en het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt bereikt is goed ingeschat. Het gaat om lage percentages en de criteria zijn duidelijk geformuleerd en door de DEC passend bevonden.
- 3V's
14. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn voor het bestuderen fibrotische aandoeningen. Dit heeft te maken met de complexiteit van deze aandoeningen. De DEC ziet in dat met name het afweersysteem

van een levend organisme op dit moment nog niet nagebootst kan worden. De DEC neemt mee in haar weging dat de vergunninghouder ook een onderzoeksprogramma heeft op het gebied van *in vitro*-modellen. Ook beschrijft de aanvrager in de strategie dat geschikte targets geïdentificeerd worden op basis van bijvoorbeeld literatuur, humane studies en/of *in vitro*-testen. Vervolgens wordt voor het valideren of modificatie van het target inderdaad tot verandering van pathologie kan leiden gebruik gemaakt van *in vitro* testen, *ex vivo* testen met humaan weefsel, naast het gebruik van *in vivo* testen in transgene dieren. Daarmee is het voor de DEC helder dat het gebruik van dieren het moment is dat er geen alternatieven zijn zonder dieren. De DEC vertrouwt erop dat de IvD hierop op experimentniveau zal toezien.

15. Het aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat op grond van literatuur en statistiek. Er is een heldere strategie om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Deze strategie bestaat uit het raadplegen van erkende statistische berekeningsmethoden en het combineren van meerdere modellen in dieren. In de bijlagen 1 en 2 laat de aanvrager zien alert te zijn op mogelijkheden voor vermindering. Bijlage 1: in het verleden zijn uitleesparameters verminderd, waardoor de groepsgrootte verkleind kon worden. Bijlage 2: door een andere anesthesiemethode kon de uitval worden verminderd (waardoor minder dieren nodig zijn voor betrouwbare uitkomsten). In het antwoord op vraag 9 van de DEC bevestigt de aanvrager dat men op de hoogte is van de gevolgen van het stellen van eisen aan de power van het experiment, namelijk het gebruik van meer dieren. Maar de DEC is ervan overtuigd dat het gebruik van meer dieren dan ook een sterker resultaat zal genereren, wat extra dierproeven daarna zal kunnen voorkomen.
16. Het project is in overeenstemming met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project is zodanig opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd, en dat de dierproeven met zo min mogelijk stress en ongerief gepaard gaan. Zo worden er modellen gekozen waarin fibrotische aandoeningen zich relatief snel manifesteren op moleculair-biologisch niveau en krijgen herstellende dieren een warmtematje (bijlage 2). Dit zijn enkele voorbeelden waaruit wij opmaken dat er aantoonbaar aandacht voor verfijning is. Met het antwoord op vraag 6 van de DEC is bovendien duidelijk geworden hoe monitoring van het ongeriefniveau plaatsvindt.
17. Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.

*Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef*

18. In de bijlagen staat beschreven hoe soms mannelijke en soms vrouwelijke dieren zullen worden gebruikt, in overleg met de opdrachtgever. De strategie en onderbouwing hierbij vindt de DEC overtuigend. De DEC is er dan ook van overtuigd dat de aanvrager in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd dat het, om de doelstellingen te bereiken, noodzakelijk is om de proeven variërend met mannelijke, dan wel vrouwelijke dieren uit te voeren. Zo wordt in bijlage 1 gekozen voor mannelijke muizen omdat zij sneller longfibrose ontwikkelen dan

vrouwtjes. Bij ratten is het vrouwelijke model gevalideerd, maar is na eventuele validatie van het mannelijke model gebruik van dat model een mogelijkheid.

19. De dieren worden in het kader van het project gedood, omdat het noodzakelijk is voor de te behalen doelen om weefsels van de dode dieren te bestuderen. De dieren worden volgens een, bijlage IV van de EU-richtlijn, passende methode gedood.
20. Omdat in het projectvoorstel specifieke typen muizen en ratten worden aangevraagd, is de vraag over herplaatsing/hergebruik niet van toepassing.

#### *NTS*

21. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en is begrijpelijk geformuleerd.

#### **D. Ethische afweging**

1. De centrale morele vraag luidt: rechtvaardigt het verkrijgen van inzicht in processen en therapieën bij fibrose-aandoeningen de dood van maximaal 24.000 muizen en maximaal 4.000 ratten, en daarbij voor 10% van de dieren licht ongerief, 89,5% matig ongerief en 0,5% ernstig ongerief?
2. De DEC TNO is van mening dat het maatschappelijk belang van inzicht in processen en therapieën bij fibrose-aandoeningen in dit project zwaarder weegt dan het belang van de proefdieren om niet aan de proeven te worden onderworpen, met bijkomend ongerief. Indien de doelstellingen bereikt worden, wat aannemelijk is, is dat een stap vooruit in de ontwikkeling van betere therapieën ter voorkoming of genezing van fibrose-aandoeningen.
3. De DEC is overtuigd van het belang van het doel, namelijk het verkrijgen van inzicht in fibroseprocessen ten behoeve van de ontwikkeling van nieuwe medicijnen tegen fibrose. Door de transleerbaarheid van de mens kan dit project bijdragen aan de ontwikkeling van dergelijke medicijnen. De waarden die voor patiënten in het geding zijn wegen zwaarder dan de waarden die voor de proefdieren in het geding zijn. De voorgestelde experimentele opzet, in combinatie met de deskundigheid van de uitvoerenden, kan daadwerkelijk bijdragen aan belangrijke gezondheidsdoelen voor menselijke patiënten. Ook heeft de DEC op grond van het projectvoorstel er vertrouwen in dat de aanvrager kan voldoen aan de 3V-voorwaarden.

#### **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.

☐ De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.
3. Er zijn geen knelpunten/dilemma's naar voren gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies, behalve de vragen zoals die gesteld zijn aan de aanvrager. Deze zijn door de aanvrager naar tevredenheid beantwoord.

