



1. Kunt u de titel van het projectvoorstel nader preciseren? De huidige titel lijkt een heel programma van onderzoek te kunnen vertegenwoordigen, terwijl het project een heel specifiek onderdeel weergeeft van 'cardiovascular safety'. In onze ogen dekt de frase 'Investigating potential cardiovascular safety issues of drugs' uit 3.3 de lading van het gehele project. We verzoeken u de titel van de NTS hierop te laten aansluiten.  
De titel is nu aangepast naar "Investigating potential cardiovascular safety issues of drugs and other substances"
2. De DEC heeft uitgebreid gediscussieerd over de aanleiding van het doen van een studie binnen dit project. We maken ons zorgen dat alleen bij epidemiologische gegevens die richting een cardiovasculair effect van een compound wijzen, meer onderzoek gedaan wordt naar dergelijke effecten van een stof. Zijn er ook andere aanleidingen om onderzoek te doen in deze richting, zoals bepaalde bekende eigenschappen van stoffen die om nader onderzoek vragen?  
Ook als preklinische in vitro en in vivo of in silico (TSA) studies potentiële cardiovasculaire issues geven en ook als er bekende eigenschappen van stofklassen zijn die mogelijk cardiovasculaire issues geven is dit een aanleiding om nader onderzoek te doen in relevante modellen. Dit is bij 3.4 Research strategy toegevoegd.
3. De DEC vond het schema van de verschillende diersmodellen een zeer heldere en beknopte weergave van de toepassing. Kunt u ook specifiek beschrijven hoe u op basis van gegevens van een compound of effecten die gezien zijn de keuze maakt tussen de verschillende diersmodellen? Om een weging te kunnen maken moet deze strategie helder zijn. Betrek in deze strategie ook het gebruik van de C57BL6/J wild-type muis. Deze ontbreekt namelijk in de tabel onder 3.4.2 van het projectvoorstel.  
We hebben de C57BL6/J wild type muis weggehaald bij de appendix bij B animals, omdat deze tot op heden niet als geschikt model is gekozen voor CV safety studies, en naar verwachting ook in de toekomst niet gekozen zal worden als model.

De keuze van het muismodel hangt af van de onderzoeksvraag. In het algemeen kunnen we zeggen dat de APOE\*3Leiden of APOE\*3Leiden.CETP muis de voorkeur heeft ten opzichte van de APOE-/- en LDLR-/- muis omdat de APOE\*3Leiden of de APOE\*3Leiden.CETP muis naar onze mening het beste translationele model is om potentiële cardiovasculaire issues te onderzoeken. De APOE\*3Leiden muis bevat het humane APOE\*3Leiden transgen wat zorgt voor een vertraagde, op de mens lijkende, (V)LDL klaring. De APOE\*3Leiden.CETP muis heeft dezelfde karakteristieken als de APOE\*3Leiden muis wat betreft het (V)LDL metabolisme, maar heeft hiernaast ook het humane CETP gen, waardoor de muis ook translationeel is wat betreft het HDL metabolisme. Als er mogelijk nadelige effecten zijn op het HDL metabolisme (naast mogelijke nadelige effecten op het (V)LDL metabolisme) heeft de APOE\*3Leiden.CETP muis de voorkeur ten opzichte van de APOE\*3Leiden muis. De APOE\*3Leiden muis heeft de voorkeur ten opzichte van de APOE\*3Leiden.CETP muis als we het CETP gemedieerde HDL-metabolisme willen uitsluiten of als de focus van de studie ligt op nadelige effecten op chronische inflammatie.

De APOE-/- muis of de LDLR-/- muis wordt gebruikt als we de betrokkenheid van ApoE of LDLR gemedieerde (V)LDL klaring bij de potentiële cardiovasculaire issues willen uitsluiten of als we bijvoorbeeld een onafhankelijke bevestiging zouden willen van gegevens met deze stammen in de literatuur. Dit is nu verwerkt in de tekst bij 3.4.2.

4. In uw projectaanvraag lezen we dat de dieren geen ongerief ondervinden van de specifieke cardiovasculaire fysiologie bij deze modellen. Tenzij wij dit verkeerd begrepen hebben, kan in de bijlage onder 2.J humane eindpunten, de vraag met "No" beantwoord worden. De informatie die u daar geeft is echter wel relevant, en past goed in I van de bijlage.  
Dit is nu aangepast, tekst is verhuist naar bijlage2 i, en bij 2.j is antwoord nu no geworden
5. Om een afweging te maken is het voor ons van belang dat het helder is hoe de dieren ingedeeld zijn in de verschillende ongeriefklassen. In de bijlage onder 2.K, de classificatie van het ongerief, missen we de percentages van dieren die naar verwachting elk van de klassen zullen bereiken, gerelateerd aan handelingen en herhalingen of combinaties daarvan (cumulatief ongerief). 5% moderate en 95% mild, dit is nu in 2.K toegevoegd.
6. In 2.K is sprake van de toepassing van 'good practice'. Kunt u dit preciseren? Hoe bepaalt u bijvoorbeeld hoeveel handelingen u doet aan een dier? We hebben nu toegevoegd dat dit good practice according to Diehl et al is., hoeveelheid en welke handelingen worden uitgevoerd bij een dier is afhankelijk van de onderzoeksvraag, waarbij natuurlijk wel genoeg tijd tussen de verschillende handelingen zit, om het dier te laten herstellen indien van toepassing. In principe zouden alle handelingen in één studie kunnen worden uitgevoerd, behalve de VLDL klaring en productie studie (beiden non-recovery). Deze zinnen zijn nu toegevoegd aan 2K. Tevens is een voorbeeld toegevoegd van een studieopzet waarin voor zover combineerbaar in een studie alle handelingen zijn opgenomen. Dit geeft de DEC een idee van het maximum aan handelingen dat een muis zal ondergaan.

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

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

### **B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)**

1. 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. Er zijn geen DEC-leden betrokken bij het betreffende project.

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

1. De aanvraag is toetsbaar en heeft voldoende samenhang. Het betreft het in opdracht controleren van verschillende medicijnen en stoffen op ongunstige bijwerkingen op het gebied van hart en bloedvaten. Om die specifieke en veel voorkomende bijwerkingen op te sporen worden muizen gebruikt die speciaal gevoelig zijn voor dit soort aandoeningen. Hoewel vooraf niet bekend is welke opdrachten er te verwachten zijn, ligt er met dit projectvoorstel een concrete aanpak op tafel die per opdracht kan worden toegepast op grond van strategische keuzes. In totaal vormt dit een logische eenheid. Naar de mening van de DEC heeft dit project dan ook voldoende samenhang en is het als een geheel te benaderen.
2. Voor zover de DEC bekend is, er is 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). Het gaat om translationeel/toegepast onderzoek, namelijk het testen van medicijnen en stoffen op ongunstige bijwerkingen op het gebied van hart en bloedvaten bij de mens.

#### *Belangen en waarden*

4. Het directe doel van het project is van concrete medicijnen en stoffen achterhalen of zij een risico vormen voor hart en bloedvaten. Het uiteindelijke doel van het project is bijdragen aan onderzoek op het gebied van veiligheid van medicijnen en stoffen, voor hart en bloedvaten. De aanvrager maakt helder dat de dierexperimenten daadwerkelijk kunnen bijdragen aan dit uiteindelijke doel. De DEC is daarom van mening dat er in voldoende mate een relatie is tussen het directe doel en het uiteindelijke doel. De experimenten worden gedaan als er epidemiologische aanleiding is om cardiovasculaire bijwerkingen te vermoeden of als er op andere wijze (in vitro, in vivo, op grond van eigenschappen van stofklassen) aanleiding is om

dergelijke bijwerkingen te verwachten, zoals duidelijk is geworden in het antwoord op vraag 2 van de DEC.

5. De belangrijkste belanghebbenden in dit onderzoeksproject zijn: personen die gevoelig zijn voor cardiovasculaire bijwerkingen en de muizen die als proefdier gebruikt worden. Daarnaast hebben opdrachtgevers belang bij informatie over hun (potentiële) product. Ook de uitvoerende organisatie en de medewerkers die aan het onderzoek werken hebben een belang. Voor de personen met een verhoogd risico van cardiovasculaire aandoeningen is direct hun veiligheid in het geding en indirect, wegens het ziekterisico: leven, gezondheid, welzijn en het kunnen ontplooiën van activiteiten. Voor de proefdieren zijn in het geding: leven, gezondheid, welzijn en het kunnen vertonen van natuurlijk gedrag. 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 DEC ziet geen aanleiding om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken. De voorschriften voor werken met genetisch gemodificeerde organismen worden in acht genomen.

#### *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 werkt met specialistische onderzoeksgroepen met jaren ervaring, zowel op het gebied van veiligheid van stoffen als van cardiovasculaire aandoeningen. Bij punt 3.2 van de aanvraag wordt duidelijk dat de organisatie al concrete resultaten heeft geboekt op het genoemde terrein. Ook is er grondige kennis aanwezig van de specifieke diermodellen, evenals een netwerk dat actuele kennisuitwisseling bevordert.
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. Muizen krijgen de onderzochte stoffen toegediend op een wijze die telkens past bij de voorliggende onderzoeksvraag, waarna diverse parameters worden gemeten. De strategie is nauwkeurig omschreven en met het antwoord op vraag 3 van de DEC extra verduidelijkt wat betreft de keuze van de diermodellen.

#### *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. De DEC had hierover wel enkele vragen (4, 5 en 6). De antwoorden daarop hebben duidelijkheid verschaft en zijn opgenomen in de aangepaste bijlage. Ongerief wordt vrijwel uitsluitend verwacht als gevolg van handelingen die met het onderzoek te maken hebben. Het zal zelden gebeuren dat een dier klinische symptomen ervaart (<0,1%). Het cumulatieve ongerief betreft dan ook verschillende handelingen, waarbij rustpauzes in acht worden genomen zoals verduidelijk in het voorbeeldschema bij 2.K in de bijlage. De DEC is van mening dat de tabel, eveneens onder 2.K, een passende schatting van het ongerief biedt, ook wat betreft de geschatte percentages dieren met (cumulatief) 5% matig en 95% mild ongerief.
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 bijlage dierproeven goed gedefinieerd en het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt bereikt is goed ingeschat. Naar schatting zal een zeer klein deel van de dieren het eindpunt bereiken, namelijk <0,1%. Dit zal niet gebeuren als gevolg van de experimentele handelingen. Daarom is op advies van de DEC bij 2.J in de bijlage "no" aangekruist en onder 2.I kort beschreven wat criteria zijn voor het uit de proef halen van dieren in incidentele gevallen. Dit is zo gedaan naar aanleiding van vraag 4 van de DEC.

3V's

14. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Dit komt voornamelijk door de complexiteit van cardiovasculaire aandoeningen.
15. Het aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en 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. Dit gebeurt door middel van vooronderzoek, pilotstudies, poweranalyses, een stapsgewijze aanpak en het maken van combinaties van studies, zoals toegelicht in 2.D van de bijlage.

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. Dit toont zich in diverse maatregelen vermeld onder 2.D van de bijlage, bijvoorbeeld observatie van de dieren door verschillende personen.
17. Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.

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

18. Er zullen volgens de bijlage zowel mannelijke als vrouwelijke dieren worden gebruikt, maar het is niet te voorspellen of die twee in balans zullen zijn. Men is hierbij afhankelijk van het optimale geslacht per studie om een goed onderzoeksresultaat te behalen. De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd dat het, om de doelstellingen te bereiken en de kwaliteit van de studies te garanderen, noodzakelijk is om de proeven soms met mannelijke, soms met vrouwelijke dieren uit te voeren.
19. De dieren worden in het kader van het project gedood. Dit is noodzakelijk om lichaamsmaterialen nader te onderzoeken ten behoeve van analyse van de uitwerking van bepaalde stoffen. De dieren worden op een volgens de bijlage IV van de EU-richtlijn passende methode gedood.
20. Omdat in het projectvoorstel muizen 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 begrijpelijk geformuleerd.

**D. Ethische afweging**

1. De centrale morele vraag luidt: rechtvaardigt het verminderen van risico's op het gebied van cardiovasculaire bijwerkingen de dood van 1.500 muizen en het voor (naar schatting) 95% van de dieren lichte, voor 5% van de dieren matige ongerief?
2. Het belang van veiligheid van stoffen en medicijnen voor personen die gevoelig zijn voor cardiovasculaire aandoeningen is groot. Deze aandoeningen komen veel voor en zijn veelal ernstig en soms levensbedreigend. Het belang van de 1.500 muizen om van ongerief verschoond te blijven (voornamelijk licht ongerief, deels matig ongerief) is ook aanzienlijk. De belangen van organisaties en bij de proeven betrokken personen zijn hierbij vergeleken klein.

3. De DEC is overtuigd van het belang van de doelstelling om de veiligheid van stoffen en medicijnen voor personen met aanleg voor cardiovasculaire aandoeningen te vergroten. De DEC weegt het voordeel voor deze personen zwaarder dan het nadeel voor de 1.500 proefdieren. De DEC vindt het belangrijk dat dit soort onderzoek wordt gedaan, omdat het om grote risico's voor de betreffende personen gaat, en om een grote bevolkingsgroep. Op grond van het bovenstaande is de DEC TNO van mening dat het gebruik van de dieren voor dit onderzoeksproject 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.

De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3. De volgende knelpunten/dilemma's zijn naar voren gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies. De DEC heeft gediscussieerd over de vraag of het voldoende is om te reageren op epidemiologische signalen dat er iets mis is met een stof of medicijn, omdat daarmee ziekte niet wordt voorkomen. Hierop is door de aanvrager afdoende antwoord gegeven bij vraag 2 van de DEC. Andere, eerdere, signalen worden ook meegenomen. Dit is door de aanvrager expliciet gemaakt bij de onderzoeksstrategie onder 3.4 in de aanvraag.