

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

1. Aanvraagnummer :

2. Titel van het project: Muscle loss

3. Titel van de NTS : De preventie en behandeling van spierafbraak

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: 18-10-2017  
 aanvraag compleet: 18-10-2017  
 in vergadering besproken: 25-10-2017  
 anderszins behandeld:  
 termijnonderbreking(en) van / tot : van 30-10-2017 tot 11-12-2017  
 besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:  
 aanpassing aanvraag: 11-12-2017  
 advies aan CCD: 22-12-2017

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

8. Eventueel horen van aanvrager: zie opmerking hieronder

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

Opmerking: De aanvrager heeft over hetzelfde onderwerp een eerder projectvoorstel ingediend op 28-6-2017, en naar aanleiding daarvan heeft een deel van de DEC op 12-10-2017 een gesprek gehad met de aanvrager. Daarop heeft de aanvrager besloten het projectvoorstel in te trekken en een geheel nieuw projectvoorstel in te dienen m.b.t. hetzelfde onderwerp 'muscle loss'. De DEC beschouwt dit als een nieuw projectvoorstel en heeft daarom het gevoerde gesprek niet expliciet in dit advies betrokken.

## 9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum vragen: 30-10-2017
- Datum antwoord: 11-12-2017
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.
- Gestelde vragen en antwoorden:

1. Onder 3.1, Background, in de allerlaatste zin schrijft u “in order to obtain a translational model”. Dit suggereert dat er nog geen translationeel model is, maar op andere plaatsen suggereert u van wel, en dat het juist om verbetering van een bestaand translationeel model gaat. Kunt u hierover duidelijkheid scheppen? We missen hierbij heel concreet: wat heeft u gedaan, wat gaat u doen, en om welke reden?

Het klopt dat wij momenteel een translationeel model hebben, wat wij verder proberen te verbeteren. Wij hebben daarom nu de genoemde formulering aangepast. Het diermodel wat wij nu gebruiken is het model met 40% calorie restrictie. Dit model heeft zich al bewezen tot een translationeel model voor muscle atrophy en reflecteert de humane situatie. Echter streven wij er continu naar om de door ons gebruikte modellen te blijven verbeteren. De concrete stappen hebben wij nu zeer kort in het background gedeelte van het projectvoorstel beschreven, maar hierbij willen we graag verwijzen naar bijlage 1. Bijlage 1 is heel gericht op deze modelverbetering en in bijlage 1 hebben we de tekst nog wat verder aangescherpt en staat nu heel concreet beschreven wat wij hebben gedaan (Zie alinea p2, bovenaan: “At this moment, studies have been performed without immobilization and using a 40% caloric restriction...etc”) en wat wij gaan doen: 1) verhoging van calorische restrictie (Zie alinea p2, “Since it would be a clear benefit to the model if beneficial effects of interventions on muscle function could be evaluated as well, we would like to shift the model from the prefrail stage more towards the frail stage...etc”) met als reden om zo het model van de prefrail stage naar de frail stage te verschuiven, waarbij we op zoek zijn naar de conditie waarbij ook een verminderde spierfunctionaliteit meetbaar is. Daarnaast, verbetering 2), willen we ook partial immobilization in het model inbrengen (zie p2, “Since there can be synergistic beneficial effects of nutritional/pharmaceutical interventions with exercise, it would be beneficial to the model if we can discriminate between the effects of caloric restriction and immobilization on muscle atrophy...etc”) met als reden om zo de effecten van immobiliteit en calorische restrictie individueel van elkaar te kunnen onderzoeken.

2. In 3.4.3, alinea 2, zin 2, schrijft u “This model has been proven to be representative and predictive of the human situation and can therefore already be used for intervention studies.” Hier missen wij onderbouwing of een referentie.

De studies die wij hebben gedaan zijn deels confidencieel en deels (nog) niet gepubliceerd, vandaar dat wij nog geen referenties hebben. Op dit moment zijn er 2 publicaties in voorbereiding en zijn de resultaten ook gepresenteerd op een poster op het congres van de European Society for Clinical Nutrition and Metabolism in September 2016. Dit is nu toegevoegd.

3. In 3.4.3, laatste zin, schrijft u: “Please note that in appendix 2, possible adaptations to the model that might be performed in the next 5 years are already included, but will not be performed in efficacy studies (appendix 2) until proven to be indeed beneficial to the model (appendix 1).” Wij verzoeken u toe te lichten wat uw criteria hier zijn voor een verbeterd model, op grond waarvan u doorgaat met het model van bijlage 1 naar bijlage 2. Hier missen wij de go/no-go-momenten. Wat gaat u doen, wanneer en onder welke voorwaarden? Wat ziet u als een toegevoegde waarde van uw te ontwikkelen model? Geldt die meerwaarde naar uw idee ook als het diermodel meer ongerief geeft dan bestaande diermodellen? Wij begrijpen dat u een model zoekt waarin grijpkracht een toegevoegde waarde kan bieden. Zijn er interventies waarbij de meetbaarheid van juist die eigenschap voldoende toegevoegde waarde biedt om extra ongerief te rechtvaardigen?

De verbeteringen van het model zijn 1) een model wat meer opschuift naar een frailty model ipv prefrail en daarbij een verminderde functionaliteit van spierkracht laat zien. Dit heeft als toegevoegde waarde dat je direct interventies kan testen op hun effectiviteit op de verbetering van spierkracht. Dit is voor alle interventies van belang. De meerwaarde van het model geldt idd ook als

er meer ongerief is, maar wij zullen de balans tov de meerwaarde van het model en het extra ongerief zorgvuldig afwegen. Wij hebben om deze reden een ondergrens ingesteld voor wat betreft het lichaamsgewicht van de muizen. Op dit moment, met het huidige model achten wij het ongerief van de individuele huisvesting hoger dan het ongerief als gevolg van de spieratrofie. Bij een hogere calorische restrictie zal het ongerief als gevolg van de spieratrofie echter toenemen. Echter door de ondergrens van het lichaamsgewicht niet te overschrijden (niet <17 g bij mannen, niet <16 g bij vrouwen), willen we voorkomen dat de balans doorslaat naar te veel ongerief. Indien, de grijpkracht (of andere functionele metingen) ook bij hogere calorische restrictie niet wordt beïnvloed, is er geen meerwaarde voor verder gaande calorische restrictie en zullen we met het huidige model verder gaan.

Een 2<sup>e</sup> verbetering van het model is de introductie van immobiliteit. Dit heeft als meerwaarde dat in het diermodel de bijdrage van immobiliteit en malnutrition los gekoppeld kunnen worden en individueel onderzocht kunnen worden, zowel in de pathogenese als in de effectiviteit van interventies. Deze ont koppeling is nu niet mogelijk om te onderzoeken in humane studies. De tekst omtrent de modelontwikkeling in bijlage 1 is nu aangescherpt en de go/no-go momenten zijn nu duidelijker benoemd. Wij hebben deze tekst nu ook deels hier toegevoegd.

4. Eén van uw doelen is het ontwikkelen van een model, en dat zou een model kunnen zijn met veel gewichtsverlies. In hoeverre zal dit een model zijn met veel ongerief, en hoe kijkt u aan tegen de toekomstige inzet van dat model als het eenmaal ontwikkeld is? Met andere woorden: creëert u niet een voor het dier ‘zwaarder’ model, zodat u uiteindelijk tegen verfijning in werkt? Voor welk type toekomstig onderzoek dat niet in bestaande modellen gedaan kan worden (en waarom niet) scheidt u dit nieuwe, zwaardere model?

Op dit moment, met het huidige model achten wij het ongerief van de individuele huisvesting hoger in dan het ongerief als gevolg van de spieratrofie. Bij een hogere calorische restrictie zal het ongerief als gevolg van de gewichtsverlies en spieratrofie echter toenemen. Echter door de ondergrens van het lichaamsgewicht niet te overschrijden, voorkomen we dat de balans doorslaat naar te veel ongerief. In het huidige model zien we dat het lichaamsgewicht met name de 1<sup>e</sup> 10 dagen afneemt en daarna in de 2<sup>e</sup> week een nieuwe wat lagere plateau fase bereikt. Naar verwachting wordt er gedurende deze periode een nieuw metabool evenwicht bereikt met een wat lagere resting energy expenditure. Ons doel is idd om een wat hogere calorische restrictie te gaan gebruiken om een verminderde spierfunctie te introduceren, wat tov het huidige model waarbij de functionaliteit niet is beïnvloed idd een zwaarder model is. Waarbij we echter zorgvuldig in de gaten houden dat de meerwaarde van het model (=introductie verminderde spierfunctionaliteit wat leidt tot de mogelijkheid om bij nieuwe interventies te kunnen testen of zij de spierfunctionaliteit kunnen verbeteren) opwegen tegen de nadelen (=meer gewichtsverlies). O.a. door een ondergrens aan het lichaamsgewicht in te stellen, maar ook door het verloop van het gewichtsverlies in de gaten te houden. Wij willen benadrukken dat deze verhoging van calorische restrictie stapsgewijs wordt ingezet, waarbij dagelijks ingegrepen kan worden indien het ongerief te hoog blijkt te zijn. Gewenst zou zijn een vergelijkbaar verloop aan gewichtsverlies met een zich stabiliserend gewicht/plateaufase in de 2<sup>e</sup> week. Daarnaast zal ook het gedrag dagelijks gemonitord worden. Naast de dagelijkse controles door de diervverzorgers, worden de muizen nl ook dagelijks gecontroleerd door de desbetreffende art. 12 analisten die de studie zullen uitvoeren. De calorische restrictie kan dus bovendien individueel gedurende de studie op elk moment worden aangepast naar aanleiding van het verloop in gewichtsverlies. Dit houdt in dat wij op individueel niveau kijken naar het gewichtsverlies en de calorie restrictie zeer gecontroleerd kunnen uitvoeren met dagelijks de mogelijkheid om meer voer te geven.

5. In de bijlagen, onder 2.K, gebruikt u enkele keren de ongeriefcategorie “mild – moderate”. Het is ons niet duidelijk wat dit betekent. “Licht tot matig”? “Licht of matig”? Onderscheidt u binnen de regel verschillende groepen dieren, geeft u dan de percentages aan. Deze categorie gebruikt u onder andere bij “caloric restriction”. Als u hieraan naar aanleiding van het voorgaande een duidelijke ongeriefcategorie koppelt, wilt u deze dan onderbouwen? Dat er bij calorierestrictie niets aan het dier te zien is, is voor de DEC onvoldoende onderbouwing.

Het ongerief van 40% calorie restrictie wordt momenteel ingeschat als mild. Dit is gebaseerd op een combinatie van factoren, een daarvan is idd dat er niets te zien is aan het dier, maar daarnaast ook de gemeten metabole parameters, het patroon van gewichtsverlies (waarbij in de 2<sup>e</sup> week een nieuw

evenwicht met plateau fase wordt bereikt), het totale gewicht van het dier: aan het einde van de calorische restrictiefase hebben we muizen die gemiddeld 21-22 g zijn, wat overeenkomt met prefrail in de mens, en overige kenmerken zoals conditie ogen, vacht, beweging. Hoewel de spiermassa is afgenomen, is er nog geen verminderde spierfunctionaliteit. Omdat wij echter aanpassingen willen doen en in de toekomst hogere calorische restrictie of immobilisatie willen uitvoeren, hebben we hiervoor het ongerief als mild to moderate ingeschat. Afgaande op de literatuur zou het ongerief hiervoor wellicht ook mild zijn, maar aangezien we deze studies niet zelf hebben uitgevoerd, hebben we het ongerief nog niet zelf kunnen beoordelen en daarom op mild to moderate ingedeeld. Deze indeling is alleen gebruikt voor de situaties die wij nog niet zelf hebben kunnen beoordelen. We hebben dit nu aangepast en een onderverdeling gemaakt met mild voor het huidige model en moderate ongerief voor de aanpassingen. Het ongerief zal moderate iig niet overschrijden omdat een te hoog ongerief een reden is (no-go decision) om de aanpassingen niet verder door te voeren.

6. Kunt u expliciet ingaan op het cumulatieve ongerief? U noemt veel verschillende interventies. Het is ons niet duidelijk welke u gaat combineren bij hetzelfde dier. Alle dieren worden individueel gehuisvest, concluderen wij, is dat juist? Gaat u daarnaast calorische beperking en immobilisatie combineren in dezelfde dieren? Hoe voert u “fecal swabs” uit, en waarom staan die op één regel met “feces collection”? Zijn dat, qua ongerief, niet heel verschillende zaken? Kunt u een voorbeeld geven van wat sommige dieren maximaal aan gestapelde interventies met ongerief zouden kunnen meemaken, en hoe u daarmee binnen de grens van maximaal matig ongerief blijft?  
Het cumulatieve ongerief is moderate. Alle dieren worden nu individueel gehuisvest met moderate ongerief. Zoals genoemd in de aanvraag willen we de mogelijkheid onderzoeken om de individuele huisvesting te combineren met interim group-housing. Echter weten we nog niet of dat idd mogelijk is. Het zou kunnen zijn dat dit tot vechten leidt omdat dagelijks de groepsrangorde opnieuw ingesteld moet worden. De calorische beperking willen we idd combineren met immobilisatie. Bij fecal swabs veeg je met een wattenstaafje langs (dus niet in) de anus, terwijl bij fecal collection op groepsniveau alleen de cage bedding wordt verzameld en fecal collection op individueel niveau de muis wordt opgepakt en een individuele keutel in een epje wordt opgevangen. Qua ongerief zijn deze handelingen allemaal mild. Bij het stapelen van interventies wordt er juist rekening mee gehouden dat het study design het moderate ongerief niet overschrijdt en dat er ook niet te veel handelingen op 1 dag plaats vinden. Een voorbeeldstudie zoals uitgevoerd is een studie met individuele huisvesting, calorische restrictie, dagelijkse ip injecties gedurende de treatment periode (=1 week), 3 kleine ongevaste bloedafnames gedurende een periode van 3 weken, verschillende lichaamsgewicht en echoMRI metingen gedurende de studie en grip strength en inverted screen testen voor en na de interventieperiode.
7. Wij missen humane eindpunten (bijlagen, 2.J), terwijl u wel een percentage noemt (<1%) dat de humane eindpunten zal bereiken. In veel studies, bijvoorbeeld, is 20% gewichtsverlies een humaan eindpunt. Hoe ziet u dit in relatie tot uw interventies, waarbij u tot 25% gewichtsverlies nastreeft? Het is ons niet duidelijk hoe lang het gewichtsverlies aanhoudt en wat de besluitvorming daarin is. Betreft u in uw antwoord ook uw ideeën over ongerief.  
De humane eindpunten waren idd incorrect en stonden niet aangegeven. Gewichtsverlies is bij deze studies waarin dit gedurende 2 weken geïnduceerd wordt geen humaan eindpunt. Andere tekenen van ongerief, zoals gedrag van de muis, tekenen van ongerief of ziekte, maar ook metabole metingen, en overige kenmerken zoals conditie ogen, vacht, beweging zullen daarom een belangrijkere rol spelen. Het gewichtsverlies zal zeer gecontroleerd plaats vinden gedurende 2 weken. Het is bekend dat de 40% calorie restrictie met name in de 1<sup>e</sup> 10 dagen plaats, waarna er een nieuw evenwicht wordt bereikt en het gewichtsverlies zich stabiliseert met nog slechts 2-3% extra in de daaropvolgende 4 dagen. Indien het patroon van gewichtsverlies op individueel niveau sneller plaats vind of zich niet stabiliseert kan er op elk moment worden ingegrepen en er weer wat meer voer gegeven worden. Indien er desondanks een blijvend gewichtsverlies is, is dit wel weer een reden om de muis voortijdig uit de studie te halen omdat er dan wat anders aan de hand is.
8. Neemt u bepaalde maatregelen om het verwachte ongerief snel op het spoor te komen? Hoe intensief is de monitoring, bijvoorbeeld?

De muizen worden minimaal 2 keer per dag gemonitord: 1 x door de diervverzorgers en 1x door de desbetreffende art. 12 analisten die de studie zullen uitvoeren. Bij zichtbare tekenen van ongerief wordt de kooi gelabeld en wordt de muis nauwkeurig gemonitord om te kijken of de gezondheidsstatus verbeterd of verslechterd. Bij twijfel over humane eindpunten kan overlegd worden met dierenarts of art. 14 functionaris.

9. Hoeveel mannelijke en hoeveel vrouwelijke dieren gaat u gebruiken in de twee bijlagen? Als dat niet gelijk verdeeld is, wat is daarbij dan uw argumentatie? Geef u dit zeer duidelijk aan in de bijlagen onder 2.B (The animals).

De BL6 muizen worden aangekocht en hierbij gaat de voorkeur uit naar mannen. De mannen zijn over het algemeen iets zwaarder dan de vrouwen, met meer lean body mass en spiermassa waardoor het window voor een verschil in spieratrofie wat groter is. Bovendien is alle historische data die we met het huidige spieratrofie model hebben, en die we gebruiken om bij een nieuwe studie het patroon in lichaamsgewicht te kunnen volgen, ook in mannen. Voor de E3L en E3L.CETP muizen geldt dat deze vanuit onze eigen fok komen. Ook hierbij zal de voorkeur om bovengenoemde reden uitgaan naar mannen. Echter speelt hier de beschikbaarheid van de muizen een grotere rol en kan om die reden uiteindelijk toch voor vrouwen gekozen worden. De muizen worden voor verschillende studies gefokt, waarbij beiden sexen gebruikt worden. De vrouwtjes zijn geschikt voor atherosclerose studies (itt tot de mannetjes die geen atherosclerose ontwikkelen) terwijl de mannetjes muizen weer meer geschikt zijn om insulineresistentie en leverziekten (NAFLD) te ontwikkelen en daarvoor worden gebruikt.

10. In de NTS zien wij nog veel vaktermen die voor een breed publiek niet te begrijpen zijn. (Bijv. immobiliteit, effectieve preventieve en therapeutische interventies, diermodellen, etc.)

Dit is nu aangepast en vereenvoudigd.

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 gaat om het verkrijgen van inzicht in spieratrofie: oorzaken, wijze van ontwikkelen, impact op de metabole gezondheid en mogelijkheden tot preventie en behandeling. Het project is opgesplitst in twee deelonderzoeken: het optimaliseren van het diermodel en een interventiestudie om na te gaan wat de effecten zijn van caloriebeperking en van immobilisatie van één achterpoot. De optimalisatiestudie staat ten dienste van de tweede, en eventueel ook van toekomstige onderzoeken.

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). Het gaat om zowel fundamenteel onderzoek (inzicht verkrijgen in het ontwikkelingsproces van spieratrofie) als translationeel/toegepast onderzoek (mogelijke interventies onderzoeken).

#### *Belangen en waarden*

4. Het directe doel van het project is: meer inzicht krijgen in de oorzaken en ontwikkeling van spieratrofie en de effecten daarvan op de algehele metabole gezondheid van de mens. Het uiteindelijke doel is bijdragen aan preventie en behandeling van spieratrofie.
5. De belangrijkste belanghebbenden in dit onderzoeksproject, en daarbij de waarden die voor hen in het geding zijn, zijn:
  - Ouderen: mobiliteit, zelfstandigheid, gezondheid, welzijn.
  - Diverse patiënten die te maken krijgen met gipsverbanden en andere vormen van immobilisatie: mobiliteit, zelfstandigheid, gezondheid, welzijn.
  - Mantelzorgers: vermindering van druk om afhankelijke ouderen en patiënten te verzorgen.
  - Het onderzoeksinstituut: voortbestaan, reputatie als 'front runner'.
  - Betrokken medewerkers: professionele ontwikkeling.
  - De betrokken proefdieren: leven, gezondheid, welzijn, natuurlijk gedrag kunnen vertonen.
6. De DEC ziet geen aanleiding om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken.

#### *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. Het is aannemelijk dat dit instituut met haar jarenlange ervaring in onderzoek op het gebied van metabole gezondheid en met de specifieke kennis en ervaring van de aanvrager, in combinatie met in het projectvoorstel genoemde samenwerkingsverbanden, dit doel kan bereiken door middel van het onderzoeksproject.
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 met experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De aandacht gaat eerst naar het optimaliseren van het diermodel voor translatie naar de mens. De tweede stap is het onderzoeken van verschillende interventies: calorische restrictie en

immobilisatie van één achterpoot. Over een aantal details hiervan heeft de DEC vragen gesteld. Deze zijn voldoende verhelderd.

#### *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 niet gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de EU-richtlijn, omdat een groot deel van de dieren individueel gehuisvest wordt om de calorische restrictie op individueel niveau te kunnen beheersen. Dit maakt deel uit van het cumulatieve ongerief en is als zodanig uitgebreid besproken door de DEC. De aanvrager maakt duidelijk naar een andere oplossing te zoeken, in elk geval om de dieren eventueel een deel van de tijd groepshuisvesting te kunnen bieden, maar de mogelijkheid bestaat dat die oplossing niet gevonden wordt.
11. Het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Dit was niet vanaf het eerste moment evident, en daarom heeft dit aspect veel aandacht gekregen in de discussie binnen de DEC en in de vragen aan de aanvrager. Het ongerief is voor 100% ingeschat op matig. Dit heeft te maken met individuele huisvesting, calorische restrictie, en diverse handelingen, zoals bloedafname. Er was bij de DEC zorg over zowel de cumulatie daarvan, als over het ontwikkelen van een 'zwaarder' diermodel voor de toekomst. De vragen 4 en 5 van de DEC hierover zijn echter bevredigend beantwoord door de aanvrager. De DEC heeft er vertrouwen in dat het welzijn van de dieren goed in de gaten zal worden gehouden en dat ook de IvD daarop goed zal toezien, zodat het ongeriefsniveau 'matig' niet overschreden zal worden.
12. De integriteit van de dieren wordt in die zin aangetast dat de muizen gebruikt worden als proefdier, individueel gehuisvest worden en (een deel van de muizen) aan een achterpoot gespalkt worden zodat hun bewegingsvrijheid beperkt wordt.
13. De humane eindpunten zijn goed beschreven (o.a. in antwoord op vraag 7 van de DEC, omdat deze aanvankelijk ontbraken), en zijn gericht op gewichtsverlies, verwonding, ziekte en/of

andere kenmerken. Dieren die beginnende kenmerken vertonen die mogelijk richting humaan eindpunt gaan, worden extra in de gaten gehouden.

3V's

14. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn voor het project. Er is nauwe samenwerking met onderzoeksinstituten die bepaalde aspecten van het bredere spieratrofievraagstuk in mensen onderzoeken, maar juist dit gedeelte kan niet worden uitgevoerd in mensen. De Dec onderschrijft de rationale van de onderzoeker dat voor het behalen van de doelen van dit project dieren nodig zijn.
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 laag mogelijk aantal dieren wordt gewerkt dat toch een betrouwbaar resultaat geeft. Dit gebeurt onder andere door het combineren van studies binnen het onderzoeksinstituut en het gebruiken van de andere achterpoot van dezelfde dieren als 'controlepoot'.
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. Er worden zoveel mogelijk niet-invasieve methoden gebruikt.
17. Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.

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

18. Er zullen bij de dierproeven meer mannelijke dan vrouwelijke dieren gebruikt worden. 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 met vooral mannelijke dieren uit te voeren. De reden is dat mannelijke dieren zwaarder zijn en meer spiermassa hebben, waardoor het venster voor variatie in spieratrofie groter is. Dit is belangrijk voor de kwaliteit van het onderzoek. Ook kunnen data beter vergeleken worden met historische data, die vooral betrekking hebben op mannelijke dieren. Waar deze eisen geen rol spelen, wordt gekeken naar de beschikbaarheid van mannetjes en vrouwtjes bij het bepalen van het geslacht. Zie ook het antwoord op vraag 9 van de DEC.
19. De dieren worden in het kader van het project gedood. Dit is noodzakelijk om het spierweefsel te onderzoeken op atrofie. 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 is redelijk begrijpelijk geformuleerd. Dit was in eerste instantie niet het geval. De DEC heeft de aanvrager hierop geattendeerd met vraag 10, waarna de NTS is verbeterd.

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

1. De centrale morele vraag luidt: rechtvaardigt het doel, namelijk inzicht krijgen in ontwikkeling en mogelijkheden tot preventie en behandeling van spieratrofie, het toebrengen van matig ongerief aan 1.500 muizen en het doden van deze dieren aan het einde van de proef?
2. Het belang voor met name de grotere groepen belanghebbenden is groot. Diverse groepen mensen krijgen te maken met spieratrofie. De grootste groep daarvan zal die van de ouderen zijn, zeker ook in de nabije toekomst (door de vergrijzing), maar ook diverse patiëntgroepen kunnen ermee te maken krijgen. Al deze groepen kunnen hierdoor kort- of langdurig afhankelijk zijn van mantelzorgers. Ook kan spieratrofie ziekenhuisopname verlengen. Dit betreft dus een groot persoonlijk en maatschappelijk belang. Anderzijds is het belang van de 1.500 muizen ook groot, door hun aantal en het 100% matige ongerief.
3. De DEC is overtuigd van het belang van de doelstelling om meer inzicht te krijgen van de oorzaken en ontwikkeling van spieratrofie en de effecten daarvan op de algehele metabole gezondheid van de mens, evenals het bijdragen aan preventie en behandeling van spieratrofie. De DEC acht het voordeel voor ouderen en patiënten en hun mantelzorgers groter dan het nadeel van de 1.500 muizen. Daar komt bij dat verbetering van het model ondersteunend kan zijn voor de kwaliteit van toekomstig onderzoek in dezelfde richting.

#### **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.

Voorwaarde: Geslacht wordt meegenomen in de modelontwikkeling. Wanneer in studies met dit model de onderzoeksvraag geen aanleiding geeft tot de keuze voor één van beide geslachten dan geldt het volgende:

- Indien verschillen aangetoond worden tussen sekse, wordt het project uitgevoerd met dat geslacht waarmee zo klein mogelijke aantallen nodig zijn om de onderzoeksvraag te kunnen beantwoorden. Dit zou per uitleesparameter kunnen verschillen.
- Indien de geslachten niet verschillen in het gebruik in deze modellen, zal de beschikbaarheid van de muizen, rekening houdend met andere projecten met die muizenstam, praktische uitvoerbaarheid en huisvesting, bepalend zijn voor de geslachtkeuze. Dit wordt beoordeeld door de IvD op werkprotocolniveau.

De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.
3. Er is discussie geweest in de DEC over het omgaan met de onzekerheden in het project, zoals het cumulatieve ongerief, het inzetten van beide geslachten en bruikbaarheid, dan wel noodzaak tot verbetering van het diermodel. Door de zorgvuldige beantwoording van de vragen, in combinatie met vertrouwen in het toezicht door de IvD, onder andere op de monitoring van het ongerief, is de DEC tot haar positieve advies met genoemde voorwaarde gekomen.