

## A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: *AVD 50100 2022 16407*
2. Titel van het project: *Prevention and treatment of metabolic disorders*
3. Titel van de NTS: *De preventie en behandeling van metabole ziekten*
4. Type aanvraag:
  - nieuwe aanvraag projectvergunning
  - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
  - naam DEC: [REDACTED]
  - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
  - e-mailadres contactpersoon: [REDACTED]
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
  - ontvangen door DEC: *16/9/22*
  - aanvraag compleet: ...
  - in vergadering besproken: *30/9/22*
  - anderszins behandeld: ...
  - termijnonderbreking(en) van *6/10/22 tot 21/10/22 en 1/11/22 tot 3/11/22*
  - besluit CCD tot verlenging adviestermijn met max. 15 werkdagen: *n.v.t.*
  - aanpassing aanvraag: *21/11/22 en 3/11/22*
  - advies aan CCD: *14/11/22*
7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD. *De aanvraag is afgestemd met, en heeft instemming van de IvD.*
8. Eventueel horen van aanvrager: *N.v.t.*
  - Datum:
  - Plaats:
  - Aantal aanwezige DEC-leden:
  - Aanwezige (namens) aanvrager:
  - Gestelde vraag/vragen:
  - Verstrekt(e) antwoord(en):
  - Het horen van de aanvrager heeft *wel/niet* geleid tot aanpassing van de aanvraag
9. Correspondentie met de aanvrager
  - Datum: *6/10/22 en 1/11/22*
  - Gestelde vraag/vragen: *zie hieronder*
  - Datum antwoord: *21/10/22 en 3/11/22*
  - Verstrekt(e) antwoord(en): *zie hieronder*
  - De antwoorden hebben *wel* geleid tot aanpassing van de aanvraag

*De door de DEC gestelde vragen en de gegeven antwoorden:*

## Projectvoorstel

1. Bij 3.1: Achtergrond: Aangezien dit een vervolg is op een eerdere vergunning zou de DEC u willen vragen naar eventuele verfijningen die in het vorige project ontdekt/toegepast zijn. Wat heeft u geleerd qua studieopzet, strategie en/of het verminderen van ongerief? [Studieopzet & strategie zijn niet gewijzigd tov voorgaande aanvraag, voor verminderen van ongerief zijn wel stappen genomen, m.n. bij de nephropathy studies met KKAY muizen, waarbij bv het aantal handelingen is gereduceerd, huisvesting is gewijzigd naar half-verwarmde kooien, muizen worden nu gehanteerd dmv buizen, urine wordt nu verzameld mbv labsand en huid- en wondverzorging is verbeterd. Echter ook bij de andere studies zijn verfijningen toegevoegd, zo zijn bij de NASH studies knaaghoutjes toegevoegd nadat was uitgezocht dat dit niet de inductie van NASH via het dieet in het diermodel beïnvloedde. In het projectvoorstel hebben we nu bij de 1<sup>e</sup> verwijzing naar de voorgaande vergunning \(2<sup>e</sup> alinea\) dit kort toegevoegd en verwijzen we verder naar de appendix, G, kopje verfijning.](#)
2. Bij 3.1.: Achtergrond: De DEC waardeert zeer dat TNO zich bewust is van de proefdiervrije alternatieven en deze toepast waar mogelijk. Kunt u concreter aangeven in hoeverre TNO actief betrokken is bij het toepassen van proefdiervrije alternatieven met betrekking tot dit type onderzoek? Kunt u hiervan enige voorbeelden geven? [In de laatste alinea van 3.1 werden al enkele voorbeelden genoemd van alternatieven waarbij TNO is betrokken zoals AMS technologie om mbv micro-dosing drug efficacy te testen en organ-on-a-chip modellen waar TNO aan werkt. Andere concrete voorbeelden van de actieve betrokkenheid van TNO zijn de betrokkenheid van onze afdeling bij TPI \(transitie proefdiervrije innovaties\) en bv de projecten AdtoME en Mechpath \(beiden samen met stichting Proefdiervrij\) waarin we bekijken hoe we in vitro modellen kunnen kwalificeren.](#)
3. Bij 3.1.: Achtergrond: u schrijft in de laatste zin dat de modellen 'highly translational animal models' zijn. Kunt u verduidelijken op welke aspecten van de modellen u doelt? [In het algemeen bedoelen we hiermee, dat naast de \(histo\)pathologische overeenkomst van het model, ook de onderliggende ziektemechanismen vergelijkbaar zijn met die van de mens. Zo geldt bv voor onze E3L en E3L.CETP muizen dat ze door het ApoE\\*3Leiden transgen een defectieve klaring hebben van VLDL/LDL deeltjes wat de langzame klaring in de mens nabootst, terwijl wild-type muizen een snelle klaring hebben. Voor ons Ldlr-/- .Leiden NASH model is ook aangetoond mbv transcriptomics, proteomics en metabolomics dat dit model de onderliggende ziekteprocessen nabootst van NASH patiënten. Voor het KKAY niermodel geldt ook dat het naast een vergelijkbare nierpathologie ook een vergelijkbare orgaanfunctie vertoont met eerst hyper en daarna hypo glomerulaire filtratie snelheid. Deze voorbeelden zijn nu toegevoegd bij 3.1, laatste zin.](#)
4. Bij 3.1.: Achtergrond: kunt u bij de aangehaalde eerdere studies van TNO referenties geven? Bij voorkeur de PMID's [Niet alle eerder aangehaalde studies zijn ook gepubliceerd, bij sommige klantstudies bv is er alleen een rapport voor de sponsor of de studies zijn nog zo recent dat die \(nog\) niet tot een publicatie hebben geleid. Bij de genoemde studies die wel zijn gepubliceerd en waarbij we een referentie melden is nu het PMID nr toegevoegd.](#)

5. Bij 3.4.1.: Strategie: De DEC mist de beschrijving van de go/no-go-momenten. U geeft een duidelijke volgorde in experimenten aan: PoC, dose/response, efficacy, mode of action. Kunt u aangeven of en wanneer er go/no-go-momenten zijn tussen de verschillende typen studies? Uiteraard zullen wij als een PoC study aantoont dat er geen werking is, geen verdere studies op dit vlak uitvoeren. Idem bij dose/response studies, een efficacy study zal alleen worden uitgevoerd als dosering werkt en niet toxisch is. Als er geen efficacy is, zal er ook geen mechanistische studie naar mode of action worden uitgevoerd. Deze go/no-go decision punten zijn nu aangegeven bij 3.4.1.
6. Bij 3.4.2: Onderbouwing strategie: U schrijft 'the cumulative inconvenience for each experiment can be estimated well in advance and will never be more than moderate'. Kunt u verhelderen of u daarbij ook rekening heeft gehouden met mogelijk nieuwe (genetische) modellen (vallend onder de handreiking GGM die per 2023 aangepast zal worden)? Ja, hier is rekening mee gehouden. Alle genetische modellen die in onze aanvraag staan genoemd (tabel 1) hebben geen intrinsiek ongerief. Dat is nu toegevoegd bij 3.4.2.

### **Bijlage 1:**

7. Bij 2.A.: bij de beschrijving van de handelingen: de DEC leest in het voorstel dat er ook sprake kan zijn van het gebruik van virale constructen maar vindt dit niet terug in deze beschrijving. Kunt u dit verduidelijken? Bij 2A onder Type of study is dit nu toegevoegd zowel bij efficacy studies (als interventie voor een bepaald target) en als tool om nieuwe modellen te ontwikkelen.
8. Bij 2.A.: bij de beschrijving van de handelingen: U heeft de handelingen duidelijk omschreven, maar de DEC mist hoe vaak deze handelingen maximaal per dier kunnen worden toegepast in een experiment, en in welke frequentie. Kunt u dit verduidelijken? Dit wisselt wat per studie, maar we hebben nu bij de handelingen in de tabel de maximaal te verwachte frequentie aangegeven.
9. Bij 2.A.: bij de handelingen: de DEC merkt op dat u schrijft: 'bolus of interleukin; i.p. or s.c. or orally'. Interleukines zullen de hoge zuurgraad van de maag niet weerstaan. Kunt u toelichten in welke gevallen u toch de orale administratieroute zou willen gebruiken? Ook merkt de DEC op dat L-NAME in het drinkwater tot meer effecten in het proefdier kan leiden dan alleen hypertensie. Hoe gaat u hier mee om? De bolus of interleukin was als vb bedoeld van een mogelijkheid om inflammatie te induceren en wordt idd alleen i.p. gegeven. Om geen toedieningsvormen uit te sluiten stonden de andere toedieningsvormen er bij, maar de orale toedieningsvorm past idd beter bij de dietary challenge. Dit is nu aangepast in de bijlage. Voor wat betreft de L-NAME, we gebruiken momenteel met name L-NNA omdat dat itt L-NAME niet meer in vivo omgezet hoeft te worden. De NO inhibitie kan inderdaad meerdere effecten hebben en we hebben gezien dat bij hoge dosering van L-NNA thoracale bloedingen konden ontstaan. Er is gekozen voor een dosering waarvan we weten dat deze wel zorgt voor hypertensie en nierfalen maar niet zodanig dat deze negatieve effecten heeft op de muis.
10. Bij 2.B.: bij dieren: de DEC vraagt zich af of er in de genetische modellen geen sprake is van constitutioneel ongerief, of mogelijk in toekomstige lijnen? Nee, voor de genetische modellen zoals beschreven in de aanvraag is er geen sprake van constitutioneel/intrinsiek ongerief. Voor veel van onze genetische modellen is een combinatie met een energie-rijk dieet nodig om een ziektebeeld te induceren dat net als bij de mens ongemerkt ontstaat. De E3L en Ldlr-/-Leiden modellen bv

leiden tot atherosclerotische plaques, maar de muizen krijgen geen hart aanval. Ook NASH is een ziekte die, net als bij de mens, ongemerkt ontstaat.

11. Bij 2B.: bij dieren: de DEC volgt uw rekensom maar zou toch graag een grove inschatting willen zien van de onderverdeling tussen de verschillende typen studies. Sommige ziektemodellen-studies brengen door de aanvullende handelingen meer ongerief met zich mee (zoals GTT/ITT, MRI's onder narcose, leverbiopt-operatie, labsand-kooi). Op basis van de aantallen die de afgelopen 5 jaar zijn gebruikt per ziektebeeld en met welk ongeriefsniveau hebben we nu een tabel met schatting hiervan bij F toegevoegd. Daarnaast verwachten we ongeveer 10% van het totale aantal dieren te gebruiken voor model ontwikkeling/verbetering en voor de komende 5 jaar verwachten we dat dit vnl voor atherosclerosis en nephropathy studies zal zijn.
12. Bij 2.C.: bij huisvesting: de DEC vermoedt dat er hier ook 'vasten' zou moeten worden beschreven. Is er ook in de labsand-kooi sprake van ontzegging van voer/drinkwater? Kunt u voor het afwijken van de bijlage ook de bijbehorende onderbouwingen geven (ook voor individuele huisvesting in CaloBox)? Vasten (gedurende 4/5h en in enkele gevallen overnacht) is nu toegevoegd. Labsand meting is idd zonder voer/water (dit verstoort de meting) echter kortdurend (3h) en overdag (als muizen van nature niet eten). Individuele housing bij vechten/kort gedurende calobox/labsand of bij de KKAy muizen (om vechten en stress te voorkomen). Dit is nu toegevoegd bij 2C.
13. Bij 2.D.: bij ongerief: u beschrijft dat u een rotarod-experiment wil doen in neuroinflammatie-modellen. Verwacht u motorische afwijkingen? Kunt u hier beschrijven wat het ongerief voor deze dieren inhoudt? Bij 2D staat niets over rotarod, wel bij 2A. De rotarod geeft slechts mild ongerief (gaat puur om balans houden). We verwachten in onze modellen hooguit zwakke motorische afwijkingen. De rotarod experimenten dienen ter controle om juist uit te sluiten dat er motorische afwijkingen zijn (dus uitsluiten van zware schade). Dit zou bijvoorbeeld kunnen gebeuren als (onbedoelde) bijwerking na farmacologische interventie. In de tabel bij F valt de rotarod test samen met andere testen onder functional behaviour and cognition tests die gezamenlijk moderate ongerief kunnen hebben (we voeren zelden alleen de rotarod test uit).
14. Bij 2.D.: bij maatregelen om ongerief te beperken: de DEC heeft uit de toelichting van de IvD vernomen dat u een verhoogde monitoring uitvoert na een operatie en eventueel geweekt voer of vast water op de bodem van de kooi aanbiedt na een operatie. Kunt u dit opnemen in de aanvraag? Dat klopt en is nu toegevoegd bij 2D.
15. Bij 2.E.: bij HEP's: de criteria zijn te vaag beschreven. Kunt u objectievere criteria, geven zoals de tijdsduur dat een dier er 'slecht' uit mag zien of vanaf welk percentage gewichtsverlies er een HEP toegepast wordt? Hier gebruiken we idd specifiekere criteria, zoals >20% gewichtsverlies of bij een combinatie van kenmerken worden de dieren binnen 24h geëuthanaseerd. Dit is nu toegevoegd bij 2E.

*Hierover heeft de DEC per mail extra toelichting gevraagd, om te verduidelijken wat bedoeld is met binnen 24h, ofwel: moet een dier soms 24 uur wachten om te worden gedood? Dit is de enige aanvullende vraag geweest, gesteld op 1/11/22. Hier het antwoord:*

Wat we hier bedoelen is dat de dieren na het constateren van een ongerief van groter of gelijk aan 2, dezelfde dag worden gedood. Het zal niet altijd direct bij constateren zijn omdat er soms voorbereidingen moeten worden getroffen om materialen op een correcte manier te verzamelen vandaar dat ik had voorgesteld om een begrenzing van de tijd aan te geven, maar 24 uur is inderdaad langer dan we bedoeld hadden. Ik heb er nu de volgende zin van gemaakt:

**The following criteria are used for this decision and mice are euthanized the same day within 4 hours when a combination of scores  $\geq 2$  is observed:**

Dit is aangepast in het bijgesloten document bij sectie 2E.

16. Bij 2.F.: bij de inschatting van ongerief: de DEC kan zich geen goed beeld vormen van wat de dieren cumulatief overkomt. Kunt u een indeling maken naar type experimenten waarin bepaalde handelingen toegepast worden? Bijvoorbeeld: een onderscheid tussen studies waarbij naast dieet/bloedafnames ook MRI's onder narcose, GTT/ITT's, operaties, labsandkooien, etc. toegepast worden. De DEC kan nu niet goed beoordelen of het cumulatieve ongerief per type studie goed ingeschat is. [Wij hebben nu een extra tabel bij F toegevoegd om dit te specificeren.](#)
17. Bij 2.G, bij verfijning: De DEC is van mening dat de labsand-kooi een verfijning is ten opzichte van de klassieke metabole kooien. Deelt u deze mening? [Ja, de labsand methode om urine op te vangen is een verfijning tov de klassieke metabole kooien met metalen raster die daarvoor werden gebruikt. De labsand methode is nu bij 2G toegevoegd als 1 van de vb van verfijningen bij de KKA<sup>y</sup> muizen die zijn doorgevoerd.](#)

**NTS:**

18. Bij trefwoorden: "diermodel" is geen onderscheidend trefwoord. Alle projecten in de internationale database van projecten met dierproeven gaan over een diermodel. Relevanter voor het publiek zou bijvoorbeeld "hart- en vaatziekten" zijn. [Diermodel is nu weggehaald bij de trefwoorden en daarvoor in de plaats hebben we hart- en vaatziekten en leverziekte toegevoegd.](#)
19. Bij Voordelen: u schrijft "metabole ziekte ontwikkeling". Dit is te compact gezegd. "De ontwikkeling van metabole ziekten" zou dit beter beschrijven. [Dit is nu aangepast.](#)
20. Kunt u in het algemeen letten op het gebruik van jargon zoals: diermodellen, induceren, "meest optimale diermodel". [Deze woorden zijn nu vervangen door dieren/studies, tot stand brengen, meest geschikte muissoort.](#)
21. Bij Verwachte gevolgen/nadelige effecten voor de dieren: u zou beter kunnen omschrijven wat dieren in de categorie 'matig ongerief' kan overkomen. U beschrijft een aantal belastende handelingen (MRI, div. operaties, gedragstesten, GTT/ITT, etc.) die niet in de NTS maar wel in de bijlage staan. Let u ook hierbij op het vermijden van jargon? [Bij het kopje adverse effects is nu toegevoegd dat het bij dieren met matig ongerief gaat om bv ongerief doordat dieren onder narcose moeten voor een operatie of een scan \(MRI\) of binnen een relatieve korte tijdsperiode van 3h herhaaldelijk kleine bloedafnames ondergaan \(GTT/ITT deze laatste 2 afkortingen staan evenals MRI niet in de NTS vermeld om jargon te vermijden\).](#)
22. Bij Redenen voor het geplande lot van de dieren na de procedure: de redenen ontbreken. [De dieren worden gedood voor het verzamelen van bloed of weefsels en/of om ongerief ten gevolge van blootstelling te beperking. Deze zin is nu aangepast in de NTS.](#)
23. Bij Verfijning: u beschrijft hier alleen de geschiktheid van het diermodel. Kunt u hier voorbeelden van verfijning geven die u toe zult passen (verhoogde monitoring, labsandkooi, etc.)? [We hebben deze vb nu toegevoegd in de NTS bij verfijning.](#)
24. De keuze van de diersoorten en de bijbehorende levensstadia: jong/volwassen is vaag. Bedoelt u jong-volwassen? Jong of volwassen dieren? Jonge en volwassen dieren? (In de laatste zin staan twee spelfouten, twee maal "ontwikkeld", dat moet "ontwikkelt" zijn.) [Jong-volwassen dieren is nu gewijzigd naar muizen van ongeveer 8-20 wk oud en de spelfouten zijn aangepast.](#)

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. 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. *Het project is vergunningplichtig. Het gaat om dierproeven in de zin der wet.*
2. De aanvraag betreft een *nieuwe aanvraag*.
3. Is de DEC competent om hierover te adviseren? *De DEC is competent om hierover te adviseren.*
4. 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 van behandeling van de aanvraag. Wel is een selectie gemaakt uit het totale aantal leden op grond van de wettelijk en ethisch benodigde expertises voor een goede afweging. Deze werkwijze (een extra brede DEC met een selectie van leden per dossier) is afgestemd met de CCD.*

## C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft. *De aanvraag is afkomstig van een instelling die contractresearch aanbied aan derden op het gebied van stofwisselingsstoornissen zoals hoge bloeddruk, hoge bloedsuikerspiegels of cholesterolspiegels in het bloed. Deze afwijkingen kunnen apart maar ook gezamenlijk voorkomen, en zijn vaak, maar niet altijd, het gevolg van overgewicht. Indien ze gezamenlijk voorkomen wordt deze combinatie het metabool syndroom en kan dit op termijn leiden tot ernstigere ziekten als diabetes, en hart- en vaatziekten. Ook leverziekten, nierproblemen en dementie kunnen een gevolg zijn en vallen allemaal onder de verzamelnaam metabole complicaties. Hoewel verandering van levensstijl de eerste stap zal zijn, is er een sterke behoefte om behandelingen te ontwikkelen die deze metabole ziekten en hun complicaties voorkomen of verminderen. De aanvrager beschrijft een stappenplan om vragen van opdrachtgevers te beantwoorden. Dit kan bestaan uit het ontwikkelen van het relevante model, dat naast de (histo)pathologische overeenkomst, ook wat betreft de onderliggende ziektemechanismen vergelijkbaar moet zijn met de mens (het fundamentele deel van het onderzoek). Ook kan dit gaan tot het testen van behandelmethoden (het translationele deel en waarvan het 'target' bekend moet zijn) in verschillende, uit de literatuur goed bekende modellen. Er zijn duidelijke stappen met beslismomenten opgenomen in de aanvraag, waarmee de IvD goed kan monitoren of het onderzoek past binnen de vergunning. De DEC heeft inhoudelijke vragen gesteld over de waarde van het model, alternatieve behandelmethoden zoals aanpassen levensstijl en humane eindpunten. De antwoorden hebben geleid tot een*

*begrijpelijker aanvraag. De aanvraag volgt voorbeeld 1A uit de nieuwe handreiking 'definitie project'.*

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 gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Wet Natuurbescherming). *Er geen sprake van tegenstrijdige wetgeving.*
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 aangekruiste categorieën (fundamenteel en translationeel onderzoek) sluiten aan bij de hoofddoelstellingen.*

*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. *Het directe doel is het aanbieden van contractresearch op het gebied van metabole ziekten aan andere onderzoeksinstituten, om voor hen relevant onderzoek te doen om te begrijpen hoe metabole gezondheid behouden kan blijven. Daarnaast kan het voorkomen dat in modellen een of meerdere interventies worden beoordeeld, omdat het voor de opdrachtgever van belang is om nieuwe behandelingen te ontwikkelen. Dit alles kan uiteindelijk leiden tot het voorkomen van metabole verstoringen en metabole complicaties.*
5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden.

*Wij geven hierbij een overzicht van de belangen in willekeurige volgorde, nog zonder prioritering of weging.*

<b>Morele waarden</b>	<b>Welzijn</b>	<b>Autonomie</b>	<b>Rechtvaardigheid</b>
<b>Belanghebbenden</b>			
<i>Proefdieren (muizen)</i>	<i>Geen pijn Geen stress Gezondheid Geluk</i>	<i>Natuurlijk gedrag Bewegingsvrijheid</i>	<i>Intrinsieke waarde Integriteit Geen instrument zijn</i>
<i>Patiënten en familie (mbt metabole ziekten)</i>	<i>Geen pijn Gezondheid</i>	<i>Bewegingsvrijheid</i>	<i>Preventieopties</i>
<i>Vergunninghouder</i>	<i>Economisch belang</i>	<i>Onderzoek doen</i>	<i>Concurrentiepositie</i>
<i>Klantbedrijven/ opdrachtgevers</i>	<i>Economisch belang Efficiëntie (selectie)</i>	<i>Onderzoek doen</i>	<i>Concurrentiepositie</i>
<i>Onderzoekers</i>	<i>Interessant werk</i>	<i>Onderzoek doen</i>	<i>Kans op succes</i>
<i>Biotechnici</i>	<i>Interessant werk Welzijn, geen stress</i>	<i>Onderzoek (helpen) doen</i>	
<i>Samenleving</i>	<i>Goede economie Geen zieken</i>		

6. Is er aanleiding voor de DEC om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken? *Er zijn geen effecten op het milieu beschreven, en de DEC heeft geen aanleiding hierover te twijfelen.*

### 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.  
*De kennis en kunde zijn voldoende gewaarborgd. Het instituut staat internationaal bekend als een gerenommeerd onderzoeksinstituut. Het thema Gezond Leven is een van de aandachtsgebieden van onderzoek. Dit onderzoek betreft onder andere gezond en veilig voedsel, gezond opgroeien, gezond werken en voorspellende gezondheidstechnologieën. Een aanzienlijk deel van het onderzoek is gewijd aan onderwijs, preventie en behandeling, hetzij in opdracht van de overheid, hetzij in samenwerking met de academische wereld of het bedrijfsleven. Voor het onderzoek dat in dit project wordt beschreven, gericht op stofwisselingsstoornissen, heeft de aanvrager een uitgebreid track record, resulterend in meer dan 200 peer-reviewed internationale publicaties. Onderzoekers binnen de groep zijn al meer dan 25 jaar werkzaam op het gebied van hart- en vaatziekten en stofwisselingsziekten.*
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.  
*Het project is goed opgezet, er is een goede strategie beschreven hoe men met de opdrachtgeven in gesprek gaat over het gewenste onderzoek en of dit ook pas binnen de wijze waarop de aanvrager het vraagstuk zou aanpakken. Men heeft de juiste modellen beschreven voor de verschillende vragen die gesteld kunnen worden, afhankelijk het type vraag (van een meer fundamenteel-wetenschappelijke vraag tot een translationele vraag) worden verschillende muizenstammen ingezet, die deels spontaan en deels op basis van het geïnduceerde genotype het gewenste functionele model als fenotype laten zien. Bij CRO-projecten als deze is het lastig om vooraf te voorspellen welke farmaceutische doelen getest gaan worden. Werkzaamheidsstudies maken vaak deel uit van de preklinische fase van de aanvrager. Men zal eerst een proof-of-concept-studie uitvoeren, gevolgd door dose-finding studies, werkzaamheidsstudies, en dan mode-of-action-studies om meer inzicht te geven in de onderliggende mechanismen. Afhankelijk van de vraagstelling van de opdrachtgever en de beschikbaarheid van data van experimenten die daar al zijn uitgevoerd, wordt een portfolio samengesteld voor experimenten die de opdrachtgever nodig heeft voor verdere ontwikkeling.*

### 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.  
*Er is geen sprake van één of meerdere bijzondere 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 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 deels niet gehuisvest volgens de vereisten in de wet. Van sommige stammen kunnen dieren zoals de KKAY-muis individueel gehuisvest worden om vechten te voorkomen en stress te verminderen. In dat geval zal de helft van de kooi extra worden verwarmd met een warmtemat zodat het dier een keuze heeft voor een 'warme' of 'koude' kant. Ook kan er sprake zijn van kortdurend vasten overdag, wanneer muizen van nature niet eten (4u/5u). Dit is om grote variaties in van voedsel afgeleide markers uit te sluiten. In sommige gevallen wordt 's nachts vasten gebruikt voor bloedafname (bijvoorbeeld wanneer ketonlichamen of vrije vetzuren of andere markers van vasten worden gemeten, of als de onderzoekers bloedmonsters nodig hebben die geen chylomicronen of van voedsel afgeleide markers bevatten). Urine wordt verzameld door huisvesting in individuele kooien met 'labsand' hetgeen het gebruik van metabole kooien (met draadroosterbodem) overbodig maakt maar wel zonder voedsel en water (hetgeen bias van morsen vermijdt) en wordt ook uitgevoerd voor een korte periode (3 uur) overdag wanneer muizen normaal gesproken niet eten. Calobox-metingen worden ook uitgevoerd via individuele huisvesting met/zonder toevoeging van voedsel (afhankelijk van de onderzoeksvraag). De DEC begrijpt dat de afwijking op de huisvestingswijze noodzakelijk is voor het correct kunnen meten van bepaalde parameters en ziet dat deze metingen zoveel mogelijk met verfijnde procedures worden uitgevoerd.*
11. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe. *Het ongerief per procedure en gerelateerd aan de duur is uitvoerig beschreven en ook per model gespecificeerd. Het daaruit voortvloeiende cumulatieve ongerief per model is naar het oordeel van de DEC correct opgenomen in de tabel van bijlage 2 bij F.*
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. *De integriteit van de proefdieren in aangetast in die zin dat zij als proefdieren worden gehouden en gebruikt. Daarnaast worden er ziekten opgewekt (door genetische modificaties, door toedienen van hoogenergetisch voer of op andere wijze) waarbij door obesitas het gedrag kan worden beïnvloed en wordt getracht de klinische verschijnselen weer te reduceren door behandelingen. Uiteindelijk worden de dieren gedood.*
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. *De humane eindpunten zijn na opmerkingen van de DEC aangepast en zijn nu goed gedefinieerd, doordat een objectief scoresysteem wordt gebruikt en de duur van het lijden is geminimaliseerd. De DEC heeft hierop doorgevraagd bij vraag 15.*

3V's

14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Licht uw beoordeling toe. *De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er voor dit onderzoek geen*

*vervangings-alternatieven zijn. Het kenmerkende principe van metabole ziekten is de gelijktijdige verstoring in meerdere organen (darm, lever, spier, vetweefsel). Het nabootsen van metabole ziekten in vitro geeft geen compleet beeld waarop de effectiviteit van nieuw geteste medicijnen kan worden beoordeeld. Voor het vaststellen van het mechanisme achter effecten van nieuwe medicijnen op complexe processen (zoals interactie tussen organen, energiemetabolisme, aanpassingsvermogen) zijn (nog) geen proefdiervrije methoden beschikbaar.*

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.  
*Het aantal te gebruiken dieren is mede gebaseerd op de verwachting van de aantallen opdrachten die de aanvrager komende 5 jaar zal krijgen. Voor het berekenen van groeps grootte is gebruik gemaakt van gegevens uit eerdere dierproeven (bijv. inschatten van biologische variatie) en statistiek. Het doel van de aanvrager is om met een minimale hoeveelheid dieren de voorgelegde onderzoeksvraag eenduidig te kunnen beantwoorden. Dat is naar het oordeel van de DEC goed beschreven in bijlage 1 vraag 2.A. Daarnaast zal waar mogelijk het aantal benodigde dieren worden verminderd door bijv. studies te combineren, zodat dezelfde controlegroep gebruikt kan worden.*
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.  
*Verfijning van proef vindt plaats door gebruik te maken van de meest geschikte muissoort. De muizen die gebruikt worden in de studies ontwikkelen overgewicht en daarbij behorende gezondheidseffecten die vergelijkbaar zijn met deze verschijnselen bij de mens. Omdat dezelfde biologische metabole processen ook plaatsvinden bij de mens, is de muis geschikt om deze processen in een compleet organisme te kunnen bestuderen. Daarnaast wordt vasten zo kort mogelijk toegepast en wordt geen gebruik gemaakt van metabolisme kooien waarbij urine door het draadrooster valt en opgevangen wordt in een trechter, maar wordt gebruik gemaakt van 'labsand' waar urine als druppel op blijft liggen en kan worden gepipetteerd in een vial.*
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.  
*De vraag over duplicatie is niet van toepassing.*

*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.  
*Er zullen volgens de aanvrager dieren van beide geslachten worden ingezet. De DEC vindt het acceptabel dat voor bepaalde modellen, waar het fenotype sterker aanwezig zou zijn in een bepaald geslacht, bij voorkeur dat geslacht wordt gebruikt.*
19. Geef aan of dieren gedood worden in het 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, geeft ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd. *De dieren worden allen gedood in het kader van het project, omdat men na afloop van het experiment nog additionele analyse in of van organen wil kunnen uitvoeren. De wijze van doden is passend bij de dodingsmethoden beschreven in bijlage IV van de richtlijn.*

20. Indien dieren 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 NTS is na aanpassingen een evenwichtige weergave van het project en is begrijpelijk geformuleerd. De DEC heeft de aanvrager geattendeerd veel vragen gesteld bij de NTS, die na beantwoording tot verbeteringen hebben geleid (vragen 18-24).*

## D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag.

*De centrale morele vraag is of licht ongerief en dood van 8.800 muizen en matige ongerief en dood van 1.200 muizen opweegt tegen het doel, namelijk het deels fundamentele en deels translationele onderzoek naar metabole storingen die tot ernstige ziekten kunnen leiden in de mens.*

2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoetgekomen 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.

*De waarden van de instelling en haar medewerkers (commercieel, kunnen werken) zijn in de ogen van de DEC van marginaal gewicht. Voor de samenleving en patiënten en hun families wegen de waarden aanzienlijk zwaarder. Daarmee wordt het belang van deskundig uitgevoerd onderzoek door een CRO toch een groot belang, aangezien de opdrachtgevers deze kennis en ervaring niet of onvoldoende zelf hebben. Metabole ziekten komen veel voor in de (welvaarts-) maatschappij. Hoewel dieet- en leefstijlinterventies zeker een eerst aangewezen behandeling zouden bieden, acht de DEC het kunnen ingrijpen middels therapeutische interventies noodzakelijk bij de meer morbide stadia van deze ziekten. Het belang van de proefdieren om geen ongerief te ondergaan en niet gedood te worden weegt ook zwaar, maar minder zwaar. De DEC heeft meegewogen dat de aanvragers het belastende deel van huisvesting in metabole kooien op roosterbodems heeft vervangen door kortduren solitaire huisvesting op 'labsand' en goed heeft uitgelegd wat kortdurend vasten voldoende is in plaats van het meer traditionele 'overnacht' vasten.*

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.

*De DEC acht het onderzoek van groot belang vanwege de omvang en het lijden van de patiëntengroep, die voor een groot deel niet gebaat is bij dieet- en levensstijlinterventies. De aanvragers zijn zeer kundig op dit gebied, zij hebben bijgedragen aan veel publicaties op dit gebied en hebben veel ervaring met de beschreven modellen en het beoordelen van de beschreven parameters. De beschreven proefdieren, muizen, worden deels in huis gefokt en zijn deels afkomstig van erkende fokkers. Volgens de aanvragers zijn er onder de huidige wetgeving geen dieren met intrinsiek ongerief. Indien dat vanaf 2023 wel het geval zou zijn volgens de dan geldende wetgeving, zou naar het oordeel van de DEC het ongerief niet wijzigen en zou de afweging daardoor niet anders zijn. De DEC heeft ook meegewogen dat de aanvrager het belastende deel van huisvesting in metabole kooien op roosterbodems heeft vervangen door kortduren solitaire huisvesting op 'labsand' en goed heeft uitgelegd wat kortdurend vasten voldoende is in plaats van het meer traditionele 'overnacht' vasten. De DEC acht het belang van de muizen reëel, maar laat het belang van het onderzoek kunnen doen naar metabole verstoringen die tot ernstige ziekten kunnen leiden in de mens zwaarder wegen, waardoor het onderzoek naar het oordeel van de DEC is gerechtvaardigd.*

## 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. *Het advies is unaniem tot stand gekomen.*

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. *Er zijn geen knelpunten of dilemma's naar voren gekomen.*