

Inventaris Wob-verzoek W16-16S									
wordt verstrekt						weigeringsgronden			
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	<b>NTS2016466</b>								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel				x		x	x	
3	Niet-technische samenvatting oud			x					
4	Bijlage beschrijving dierproeven oud				x		x	x	
5	DEC-advies				x		x	x	
6	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
7	Verzoek aanvulling aanvraag				x		x	x	
8	Mail reactie aanvulling 9-5-2016				x		x	x	
9	Projectvoorstel herzien				x		x	x	
10	Niet-technische samenvatting herzien	x							
11	Bijlage beschrijving dierproeven herzien				x		x	x	
12	Advies CCD		x						x
13	Beschikking en vergunning				x		x	x	

17 MAART 2016



AVD 105002016466

## Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl) of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

### 1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in 10500	<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie Rijksuniversiteit Groningen	
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	
		KvK-nummer	01179037
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	A. Deusinglaan 1, [redacted]
		Postbus	
		Postcode en plaats	9713AV GRONINGEN
		IBAN	
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[redacted] <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	Universitair docent
		Afdeling	
		Telefoonnummer	[redacted]
		E-mailadres	[redacted]
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[redacted] <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
		Functie	Universitair docent
		Afdeling	[redacted]
		Telefoonnummer	[redacted]
		E-mailadres	[redacted]

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- |                             |                     |   |
|-----------------------------|---------------------|---|
| (Titel) Naam en voorletters | [REDACTED]          | <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie                     | Universitair docent |   |
| Afdeling                    | [REDACTED]          |   |
| Telefoonnummer              | [REDACTED]          |   |
| E-mailadres                 | [REDACTED]          |   |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- |  |   |
|--|---|
| <input checked="" type="checkbox"/> Ja | > Stuur dan het ingevulde formulier <i>Melding Machtiging</i> mee met deze aanvraag |
| <input type="checkbox"/> Nee           |   |

## 2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- |  |   |
|--|---|
| <input checked="" type="checkbox"/> Nieuwe aanvraag  | > Ga verder met vraag 3                                     |
| <input type="checkbox"/> Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn    | Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2 |
| <input type="checkbox"/> Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn | Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3 |
- 2.2 Is dit een *wijziging* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?
- |   |  |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Ja             | > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier |
| <input checked="" type="checkbox"/> Nee | > Ga verder met vraag 3  |
- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- |  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Nee           | > Ga verder met vraag 3                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> Ja | > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6 |
- 

## 3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- |            |               |
|------------|---------------|
| Startdatum | 1 - 4 - 2016  |
| Einddatum  | 31 - 3 - 2021 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- |   |
|---|
| Ontwikkeling van aneuploidie-targeting therapie |
|---|
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- |   |
|---|
| Zoeken naar aneuploidie specifieke kankertherapie |
|---|
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- |             |                              |
|-------------|------------------------------|
| Naam DEC    | DEC-RUG                      |
| Postadres   | A. Deusinglaan 1, [REDACTED] |
| E-mailadres | secrdec.umcg@umcg.nl         |

## 4 Betaalgegevens


- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 935 Lege  
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.  
*Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*
- Via een eenmalige incasso  
 Na ontvangst van de factuur


## 5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel  
 Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging

## 6 Ondertekening

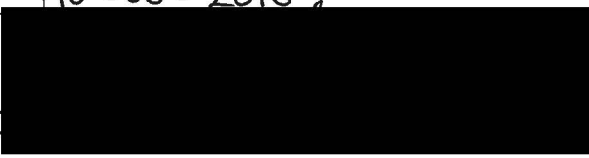
- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:
- Centrale Commissie  
 Dierproeven  
 Postbus 20401  
 2500 EK Den Haag
- Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende verklaart:
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
  - dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
  - dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
  - dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
  - dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

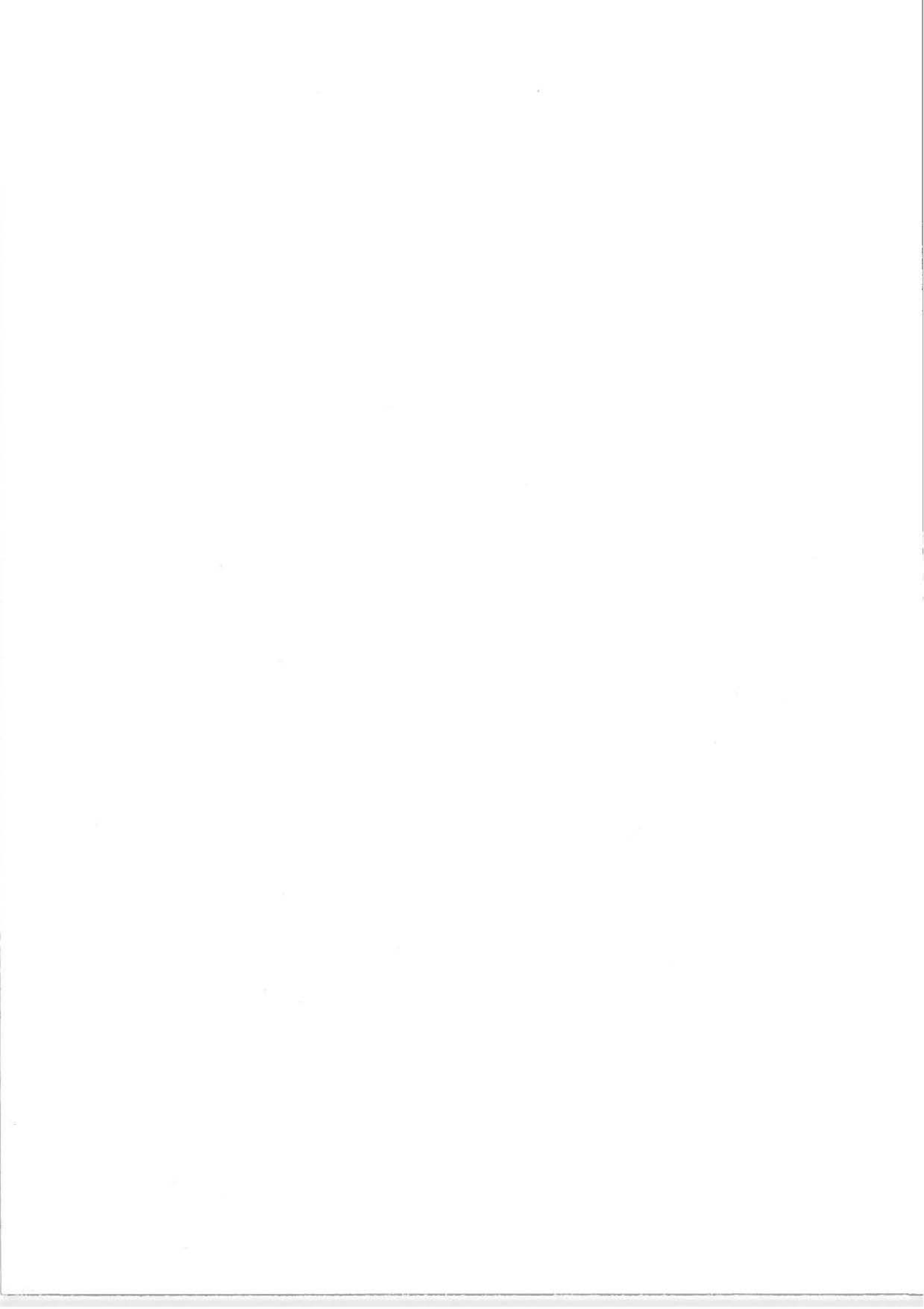
Naam 

Functie 

Plaats GRONINGEN

Datum 16-03-2016

Handtekening 





## Format Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

### 2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

### 3 Algemene projectbeschrijving

#### 3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Elke celdeling wordt ons erfelijk materiaal gerepliceerd en verdeeld over de twee nieuwe ontstane dochtercellen. Soms maken cellen een fout bij het verdelen van de chromosomen en ontstaan er twee cellen met een afwijkende hoeveelheid DNA. Dit proces noemen we chromosomale instabiliteit; de cellen met afwijkende hoeveelheden chromosomen noemen we aneuploïde. Kankercellen maken dit soort van fouten frequent en **twee van de drie tumoren zijn dan ook aneuploïde**. Omdat de omliggende gezonde cellen zelden tot niet aneuploïde zijn, vormt aneuploidie een veelbelovend aangrijppunt voor kankertherapie. Om tot zulke therapie te kunnen komen, moeten we eerst beter begrijpen waarom de meeste kankers aneuploïde zijn en dus wat de gevolgen zijn van aneuploidie voor het ontstaan van kanker.

Hiertoe zijn in de afgelopen 15 jaar diverse muismodellen gemaakt waarin systemisch (dus in alle weefsels van de muis) aneuploidie werd geprovoceerd. In deze modellen werden genen uitgeschakeld in het 'mitotic spindle checkpoint', een mechanisme dat in mitose bepaalt of alle chromosomen correct gebonden zijn aan de mitotische spoel. Het inactiveren van dit mechanisme leidt tot frequente fouten in de chromosoomverdeling en dus tot aneuploidie. Het systemisch inactiveren van genen in het mitotic spindle checkpoint leidt in alle gevallen tot vroege embryonale letaliteit (~E6.5). Heterozygote dieren lieten milde aneuploidie zien en in sommige gevallen een iets verhoogde frequentie van kankers (als de dieren een kankerpredispositie lieten zien, ontwikkelde ongeveer 1/3 van de dieren tumoren na 18-24 maanden) (zie voor review: ██████████). In veel gevallen waren deze dieren wel gevoeliger voor geïnduceerde kankers (bijvoorbeeld door het inactiveren van ██████████ of het blootstellen aan carcinogene stoffen). Samengevat hebben deze modellen ons geleerd dat chromosomale instabiliteit kanker versnelt maar dat het (in de muis) geen primaire oorzaak is van kanker. Verder lieten enkele van de modellen versnelde veroudering zien, wat suggereert dat aneuploidie ook gerelateerd is aan veroudering. Ondanks dat deze modellen wel de relatie tussen aneuploidie, kanker en veroudering hebben geschetst, zijn deze modellen minder geschikt om de moleculaire gevolgen van aneuploidie in kanker te onderzoeken, omdat de tumoren in deze modellen zeldzaam zijn, in diverse weefsels ontstaan en pas laat in het leven van de muis. Om in deze modellen de gevolgen van aneuploidie in kaart te brengen zouden onnodig veel dieren nodig zijn.

Wij hebben daarom conditionele knockout (cKO) muizen gemaakt, waarin we in weefsels naar keuze het mitotic spindle checkpoint kunnen uitschakelen (██████████ cKO) of verzwakken (██████████ cKO). Middels deze modellen onderzoeken we wat de moleculaire gevolgen zijn van aneuploidie voor weefselontwikkeling, en verder hoe aneuploidie leidt tot kanker. In deze modellen kunnen we ernstige aneuploidie veroorzaken op weefselniveau en op deze wijze hebben we een tumormodel (T-cell acute lymphoblastic lymphoma) kunnen ontwikkelen, waarin 100% van de muizen binnen 3 maanden (██████████) (██████████) of 4 maanden (██████████) (██████████) aneuploïde lymphomen ontwikkelen. Dankzij deze modellen hebben we een zeer reproduceerbaar en gedefinieerd tumorcohort kunnen genereren, en kunnen we beter de moleculaire gevolgen van aneuploidie in kaart brengen.

Zoals de eerdere modellen al suggereerden, laten ook onze modellen zien dat chromosomale instabiliteit alleen niet voldoende is voor kanker. We hebben dit

laten zien in T-cellen ( ), de lever ( ) en de huid ( ) wat aangeeft dat aneuploïde cellen nog extra mutaties nodig hebben om te transformeren in aneuploïde kankercellen. Daarnaast hebben we gevonden dat verschillende celtypes op verschillende wijze omgaan met aneuploidie. Zo blijken T-cellen ( ), levercellen ( ) en basal epidermal cells ( ) vrij goed tegen aneuploidie te kunnen, in tegenstelling tot bijvoorbeeld de bulge stamcellen van de huid, die in de haarfollikel liggen ( ). Dit laatste type cellen gaat net als cellen in weefselweek relatief snel dood (Kops et al, PNAS, 2004 Jun 8; 101(23):8699-704) t.g.v. aneuploidie. Dit geeft aan dat de verschillende celtypen op verschillende wijze omgaan met aneuploidie en benadrukt het belang van weefsel-specifieke knockouts om te komen tot therapieën die selectief aneuploïde kankers aanpakken.

### 3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Twee van de drie kankers is aneuploïde en de afgelopen 15 jaar zijn er dan ook diverse muismodellen gegenereerd om te onderzoeken hoe aneuploidie kan leiden tot kanker. Tot nu toe waren dit alleen conventionele knockout muismodellen (knockout in alle lichaamscellen; zie voor review bijv.: (Schvartzman J-M, *et al* Nat Rev Cancer; 2010; 10:102–15) waarbij grootschalige aneuploidie zonder uitzondering leidde tot vroege embryonale letaliteit (<E8.5). Heterozygote inactivatie van de bestudeerde genen leidde tot zwakke tumorfenotypes, waarbij ~30% van de dieren aan het einde van hun leven (18-24 maanden) tumoren kregen in diverse weefsels. Daarom lenen deze modellen zich er niet voor om gestructureerd de fysiologische gevolgen van aneuploidie in kanker te onderzoeken.

Paradoxaal genoeg leidt aneuploidie in weefselweek tot een groeinadeel, niet een groeivoordeel (Kops GJPL *et al*, Proc Natl Acad Sci USA. 2014;101:8699–704); (Williams BR, *et al* Science; 2008; 322:703–709). Dit suggereert dat aneuploïde kankercellen zich aan hebben weten te passen aan de nadelen van aneuploidie. Dit betekent ook, dat als we beter begrijpen hoe aneuploïde kankercellen omgaan met de (nadelige) gevolgen van aneuploïde, we mogelijk kunnen komen tot manieren om aneuploïde kankercellen selectief te doden, het lange-termijn doel in mijn lab. Daarvoor moeten we in eerste instantie beter begrijpen hoe kankercellen en niet-kwaadaardige cellen omgaan met aneuploidie. Hiervoor hebben we conditionele knockout allelen gegenereerd (voor en ) waarmee we aneuploidie kunnen provoceren op weefsel-specifiek niveau. Deze modellen stellen ons, in tegenstelling tot de vroegere modellen, in staat om gestructureerd te onderzoeken hoe weefsels en tumoren omgaan met aneuploidie en hoe dit leidt tot kanker ( ). In een in parallel ingediend projectvoorstel onderzoeken hoe cellen aneuploïde worden, hoe aneuploidie cellen helpt om kwaadaardig te worden en wat de fysiologische gevolgen zijn van aneuploidie. Om uiteindelijk te komen tot nieuwe therapie die aneuploidie gebruikt om kankercellen te doden stellen we in dit project de **volgende vraag**:

1. Hoe kan aneuploïde kanker specifiek bestreden worden? Twee van de drie kankers zijn aneuploïde. Het selectief doden van aneuploïde cellen is dus, in theorie, een hele effectieve manier om kanker te bestrijden. Helaas zijn hiervoor nog geen geneesmiddelen beschikbaar. Dat het selectief doden van aneuploïde cellen in principe mogelijk is, heeft ons eigen werk en dat van onze collega's al eerder laten zien in een proof of principle experiment. Aneuploidie leidt namelijk tot een ontregeling van het metabolisme en de eiwituishouding. Deze ontregeling kan worden verergerd door weefselweekcellen te behandelen met de ( ). Aneuploïde cellen blijken in weefselweekexperimenten namelijk gevoeliger voor ( ) behandeling dan niet aneuploïde cellen (Tang *et al*, Cell. 2011; 144(4): 499-512). Wij hebben deze bevindingen in kweek bevestigd en willen



dit nu valideren in onze muismodellen voor aneuploïde kanker. Zo willen we de effectiviteit van ██████ vergelijken met de effectiviteit van bestaande therapieën zoals ██████. Daarnaast zullen de experimenten beschreven in het in parallel ingediende projectvoorstel leiden tot verder begrip van hoe kankercellen zich aanpassen aan de nadelen van aneuploïdie. Als we beter weten hoe cellen in de diverse weefsels zich aanpassen aan aneuploïdie, dan kunnen we hierop ingrijpen met small molecule compounds (vergelijkbaar als ██████ en daarmee de aneuploïde cellen mogelijk specifiek doden. Dergelijke kandidaat compounds zullen eerst uitgebreid in celweek getest worden, maar willen we uiteindelijk ook testen in onze muismodellen voor aneuploïde kanker om het te bewijzen mechanisme *in vivo* te valideren. Belangrijk om te vermelden is ook dat het testen van deze compounds geen systematische screening van compounds vanuit de farma betreft, maar gericht gekozen compounds die selectief pathways targetten zoals ██████ of compounds te ontdekken vanuit ons andere projectvoorstel en dienen om het moleculair mechanisme beter te begrijpen.

**Haalbaarheid:** De hierboven benoemde vraag kunnen we beantwoorden met de dierexperimenten beschreven in dit voorstel. Voor de gestelde vraag zijn de modellen al beschikbaar, of kunnen we de modellen genereren samen met onze collega's binnen ██████. In dit voorstel zullen we interfereren met processen die van aneuploïdie cellen een kanker cel maken om aneuploïde kanker te bestrijden. Dit zal in eerste instantie gebeuren middels bekende kankertherapeutica, dosering en protocol zijn dus bekend, maar deze therapeutica zijn nog nooit specifiek op dit soort van diermodellen getest. Dit levert dus kennis op over de efficiëntie van deze therapeutica in de behandeling van aneuploïdie tumoren. Daarnaast biedt het de mogelijkheid om onze modellen te valideren voor dit soort van preklinische tests. Het door ons in parallel ingediend projectvoorstel zal leiden tot nieuwe therapeutica die aneuploïde cellen kunnen doden. Alvorens we dit soort van kandidaat compounds in de muis zullen testen, zullen we, zoals aangegeven, deze eerst uitgebreid *in vitro* testen (zoals we reeds doen voor ██████ als beschreven in Tang et al).

### 3.3 Belang

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

Het primaire belang van dit onderzoek is wetenschappelijk. 2 van de 3 kankers zijn aneuploïde. Ondanks dit gegeven, zijn er nog geen therapieën beschikbaar die selectief aneuploïde cellen kunnen bestrijden, terwijl aneuploïde zo'n belangrijk onderscheidende factor van 'gezonde' lichaamscellen is. Om tot dergelijke therapie te komen, moeten we eerst beter begrijpen hoe cellen en weefsels omgaan met aneuploïdie, kennis die we vergaren vanuit een parallel ingediend projectvoorstel. Dit doen we waar mogelijk met celweekexperimenten, maar het blijkt dat cellen in celweek vaak anders op aneuploïdie reageren dan cellen in hun eigen fysiologische niche. Daarom, om tot aneuploïdie-selectieve therapie te komen, is het van cruciaal belang om aneuploïdie in diermodellen de onderzoeken. Onze modellen zijn wereldwijd uniek en hebben al belangrijke resultaten opgeleverd over aneuploïdie en de gevolgen daarvan. In deze experimenten werken we deze bevindingen verder uit en komen we stap voor stap steeds dichterbij mogelijke therapieën die selectief aneuploïde cellen kunnen doden, welke zeer belangrijk kunnen worden in de behandeling van 2 van de 3 kankers, maar mogelijk ook kunnen helpen veroudering beter te begrijpen om uiteindelijk de gevolgen van het ouder worden te kunnen vertragen (healthy ageing), twee zeer belangrijke maatschappelijke belangen. Dit doen we waar mogelijk met celweekexperimenten, maar het blijkt dat cellen in celweek vaak anders op aneuploïdie reageren dan cellen in hun eigen fysiologische niche. Daarom, om tot aneuploïdie-selectieve therapie te komen, is het van cruciaal belang om aneuploïdie in diermodellen de onderzoeken.

### 3.4 Onderzoeksstrategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

Het doel van deze aanvraag is komen tot manieren om aneuploïde (kanker)cellen selectief te doden. Hiertoe nemen we de volgende benaderingen:

- 1) We zullen onze bestaande muismodellen voor aneuploïde kanker behandelen met bestaande therapeutica (bijv. ██████████) om te kijken of er verschillen zijn in de uitkomst bij middelen die DNA schade provoceren (zoals ██████████) en middelen die chromosomale instabiliteit veroorzaken/verergeren (██████████). Aangezien deze middelen in de kliniek toegepast worden is dosering en toxiciteit bekend.
- 2) We zullen onze bestaande muismodellen voor aneuploïde kanker gebruiken om de nieuw gevonden aneuploïdy targeting compounds ██████████ - ██████████ te testen in hun effectiviteit om aneuploïde kanker te genezen.
- 3) We zullen de kennis gegenereerd vanuit het in parallel ingediend projectvoorstel benutten om te komen tot nieuwe therapeutica die aneuploïde cellen selectief doden, welke we zullen testen in onze muismodellen voor aneuploïde kanker, zoals beschreven onder benaderingen 1 en 2.

Samenvattend zullen we, gebruikmakend van de kennis gegenereerd in het in parallel ingediend projectvoorstel, onze muismodellen eerst valideren voor het preklinisch testen van kankertherapeutica, om daarna deze muismodellen te gebruiken voor het feitelijk preklinisch testen van te valideren en nieuw te ontdekken aneuploïdie-targeting therapeutica.

---

#### 3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

---

In dit project stellen we 1 hoofdvraag:

1. Hoe kan aneuploïde kanker specifiek bestreden worden?

Deze vraag zullen we beantwoorden middels 1 dierproeftype:

- Interventiemodellen voor aneuploïde kanker.

---

#### 3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

---

Voor vraag 3 zullen we de kennis uit het in parallel ingediend projectvoorstel omzetten in therapie. In de eerste twee jaar zullen we beginnen met het testen van ██████████ behandeling van aneuploïde kankers (om de aneuploïdie zelf te verergeren) om te testen of dit in geval van aneuploïde kankers juist een goed (cellen gaan dood) of slecht (aneuploïde cellen kunnen goed tegen aneuploïdie) idee is. Voor deze compounds zijn farmacokinetiek en – dynamiek in de muis bekend). In parallel zullen we testen of het ontregelen van het tumormetabolisme ██████████; wordt gebruikt bij herstel na hartoperaties in de mens, dosering dus afleidbaar) een goede behandeling is voor aneuploïde tumoren. Daarnaast zullen met name vraag 2 biologische processen blootleggen die aneuploïde cellen nodig hebben om maligne te worden. Deze processen zullen we chemisch gaan remmen of juist harder aanzetten om zo de aneuploïde kankercellen te doden. Deze experimenten zullen we pas starten als 1) we de werking van de compounds uitgebreid in weefselkweek gevalideerd hebben, 2) er gevalideerde kandidaatgenen hebben uit de voorgaande vragen en 3) als de compounds veilig in de muis gebruikt kunnen worden (literatuurstudie of toxiciteitstesten). Voor dit soort nieuwe compounds zullen we dan ook pas vanaf ongeveer jaar 3 kunnen beginnen.

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

Volgnummer	Type dierproef
1	Interventiemodellen voor aneuploïde kanker
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



## Format

### Niet-technische samenvatting

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

## 1 Algemene gegevens

- 1.1 Titel van het project | Zoeken naar aneuploidie specifieke kankertherapie
- 1.2 Looptijd van het project | 5 jaar
- 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) | Aneuploidie, kanker, kankertherapie

## 2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*

### 3 Projectbeschrijving

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	Aneuploidie is een afwijkende hoeveelheid erfelijk materiaal in de celkern. Aneuploidie is een veelvoorkomende eigenschap van kankercellen; twee van de drie kankers bestaan uit cellen die aneuploide zijn. Daarmee is een eigenschap waarmee men kankercellen kan onderscheiden van gezonde lichaamscellen. Het specifiek doden van aneuploide kankercellen zou mogelijk een zeer selectieve manier kunnen zijn om een groot deel van de kankers aan te pakken. Tot dusver is er geen therapie beschikbaar die selectief aneuploide cellen kan doden. In dit onderzoek zullen we nieuwe en bestaande therapeutica testen voor hun effectiviteit in het (selectief) doden van aneuploide kankercellen. Hiervoor zullen we gebruik maken van muismodellen ontwikkeld in ons lab, waarin zeer reproduceerbaar aneuploide acute T-cel lymphomen ontstaan. Door dit onderzoek zullen we beter inzicht krijgen wat de beste manier is om aneuploide kankers te behandelen, wat mogelijk leidt tot selectievere anti-kankertherapie met minder bijwerkingen.
3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	Door dit onderzoek zullen we komen tot: 1) een mogelijke verbetering voor de behandeling van aneuploidie tumoren middels bestaande therapeutica (wetenschappelijk en maatschappelijk doel) 2) de eerste stappen richting aneuploidie-selectieve therapie (wetenschappelijk en maatschappelijk doel).  Verder zal dit project leiden tot: 1) muismodellen waarin we voor het eerst een mogelijke aneuploidiespecifieke therapie kunnen testen (wetenschappelijk en maatschappelijk doel). 2) Alternatieven voor dierproeven (weefselkweek, organoids).
3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	Voor ons onderzoek zullen we gebruik maken van volwassen transgene en wildtype muizen (maximaal 700)
3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?	De meerderheid van de van de dieren zal beginnende tumoren ontwikkelen. Deze zullen worden behandeld met diverse therapie, waarop de tumoren wel of niet verdwijnen. Tumoren zullen middels non-invasieve imaging gevolgd worden zodat dieren tijdig getermineerd kunnen worden indien de therapie niet werkt.
3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	~25% van de dieren zal mild ongerief (injecties, non-invasieve imaging, wegen) hebben; ~72% van de dieren zal matig ongerief hebben (tumoren, tumortransplantaties), ~3% zal ernstig ongerief hebben (vorderende of uitgezaaide tumor, opofferen op basis van humane eindpunten).
3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	De dieren zullen aan het einde van het experiment gedood worden voor uitgebreide analyse.

## 4 Drie V's

### 4.1 Vervanging

Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

Proefdieren zijn nodig omdat de te onderzoeken processen in een levend organisme moeten plaatsvinden. Al onze experimenten worden vooraf gegaan door uitgebreid weefselweekonderzoek, waarin we onderzoeken hoe in kweekschaaltjes cellen omgaan met aneuploidie en hoe aneuploide cellen reageren op onze nieuw ontdekte therapieën. Pas als we heel zeker zijn van onze weefselweekbevindingen, zullen we overgaan tot het testen in muizen, omdat dit het meest geschikte model is om kanker te onderzoeken. Ons voorgaand werk heeft namelijk duidelijk laten zien dat hoe cellen in weefselweek reageren op aneuploidie niet altijd overeenkomt met hoe cellen in een weefsel reageren. Daarnaast is het tot dusver onmogelijk gebleken om kanker en andere complexe biologische processen betrouwbaar alleen in weefselweek te modelleren. Uiteindelijk zijn deze proefdiermodellen noodzakelijk voor het vervolgstadium waarbij de nieuwe therapie in klinische studies in de mens verder wordt gevalideerd.

### 4.2 Vermindering

Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.

Voor elk dierexperiment zullen we voorafgaand een statistische analyse uitvoeren om het precies aantal benodigde dieren te berekenen. In gevallen waarbij we niet perfect het aantal benodigde dieren van tevoren weten (bijvoorbeeld als we een nog onbekend biologisch proces bestuderen), zullen we altijd eerst een kleine groep dieren testen (pilot cohort, gebaseerd op jarenlange ervaring) om te komen tot de correcte complete groepsgrootte. Tenslotte houden we ons via literatuur en ons professionele netwerk op de hoogte van het werk van onze collega's om duplicatie van dierexperimenten te voorkomen. Op deze wijze dragen we er zorg voor dat we een minimum aantal proefdieren nodig zullen hebben en dat ongerief tot een minimum beperkt blijft.

### 4.3 Verfijning

Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

De muis is het meest geschikte model voor dit type onderzoek gezien de kennis, hulpmiddelen en technieken die beschikbaar zijn voor kankeronderzoek in de muis. We onderzoeken de effecten van aneuploidie met name in weefsels waar muizen er relatief weinig last van ondervinden en beëindigen experimenten voordat muizen ernstig ongerief ondervinden.

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt

Tumoren zullen in eerste instantie optreden in het weefsel waarin we de aneuploidie geïnduceerd hebben. Deze weefsels zullen uitgebreid gemonitord worden. Door onze ruime ervaring en de ruime ervaring van onze dierverzorgers zullen dieren opgeofferd worden bij de eerste symptomen van ongerief. Op deze wijze zullen we het ongerief tot een minimum beperken. Dieren zullen daarom zeer regelmatig geïnspecteerd worden om ongerief zo vroeg mogelijk te zien. Dieren zullen worden verdoofd waar nodig (bijvoorbeeld bij intravital imaging). Door op weefselniveau te kijken naar aneuploidie wordt eventueel ongerief beperkt tot 1 orgaansysteem. Bovendien ligt het focus op orgaansystemen waarin tumoren relatief weinig

[

mogelijk te houden.

ongerief/pijn geven (bloed, lever, huid, cerebellum) en zal onze kennis van de modellen eraan bijdragen dat de dieren worden opgeofferd voordat ze ongerief zullen ondervinden van de tumoren.

## 5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

#### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef                             |
|------------|--|
| 1          | Interventiemodellen voor aneuploide kanker |

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

#### 2 Beschrijving dierproeven

##### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

In dit type dierproef zullen we onze opgedane kennis over welke processen van aneuploide cellen aneuploide kankercellen maken valideren door dieren met aneuploide tumoren te behandelen met therapeutica die selectief aneuploide cellen doodmaakt. Deze experimenten dienen om 1) te valideren of onze muismodellen voor aneuploide kanker geschikt zijn als preklinische modellen, 2) om te kijken welke bestaande chemotherapeutica het meest geschikt zijn om aneuploide kanker te behandelen, en 3) om nieuwe middelen die selectief aneuploide kankercellen doden in celweek in vivo te valideren. Hiervoor maken we gebruik van onze krachtige T-ALL tumormodellen: aneuploide ██████████; T-ALL, ██████████ aneuploide T-ALL en controle (niet aneuploide) ██████████; T-ALL. In alle drie deze genotypes ontstaan tumoren in de thymus 3-5 maanden na geboorte, waarbij de eerste 2 genotypes aneuploide tumoren geven. We zullen in



deze dieren middels een genetische fluorescente reporter (Rosa-STOP-LOX-STOP-Tomato) alle knockout T-cellen rood labelen. Op deze wijze kunnen we middels de IVIS bodyscanner zien of de dieren al tumoren hebben ontwikkeld. Dieren met een beginnende tumor zullen dan behandeld gaan worden met de verschillende therapeutische regimes die ons onderzoek voorspelt te werken voor aneuploide kankers.

De primaire uitleesparameters voor dit dierproeftype zijn:

- tumorgrootte (te bepalen middels bloedmetingen en door de IVIS scanner (de tumoren zijn fluorescent gelabeld met een reporter gen). We zullen de tumorontwikkeling volgen in de tijd en in relatie tot de diverse te testen therapeutica. In een enkel geval zullen we dieren ook met MRI meten.
- tumor differentiatie/type: dit zullen we meten met flowcytometrie
- aneuploidie: we zullen de tumoren regelmatig valideren op aneuploidie middels metaphase spreads, interphase FISH en single cell sequencing. We zullen ook kijken of de aneuploidie verandert in tumoren die therapieresistent worden.
- tumor transcriptoom: we zullen kijken hoe de tumoren reageren op therapie en hoe de transcriptomen veranderen als de tumor resistent terugkomt.
- tumorgenoom: in geval van resistente tumoren zullen we mogelijk gaan kijken welke mutaties hieraan hebben bijgedragen met whole genome sequencing.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

De dieren zullen worden behandeld met drie 'types' therapeutica. Het eerste type betreft gevalideerde therapeutica die reeds gebruikt worden in de kliniek tegen kanker (bijvoorbeeld ██████████). In dit type experiment willen we kijken welk type bestaande therapie het beste werkt op aneuploide tumoren, met name omdat bepaalde therapie juist werkt door cellen ██████████) en de vraag is of dit een goed idee is bij aneuploide tumoren die al goed om kunnen gaan met aneuploidie of dat deze tumoren beter behandeld kunnen worden met DNA-schade inducerende compounds zoals ██████████.

Type twee zijn therapeutica die wel gebruikt worden in de kliniek, maar nog niet in de bestrijding van kanker (bijv. ██████████). De dosering is hiervan bekend, maar het effect op (aneuploide) kanker nog niet. Een ander voorbeeld is ██████████ waar wij van denken dat het heel effectief zal zijn in de bestrijding van aneuploide T-cel lymphomen.

Het derde type therapeutica betreft nieuw te vinden middelen uit ons onderzoek in mijn lab. Deze therapeutica zullen we alleen gaan gebruiken als we de werkbare doet in de muis kennen (nieuwe compounds, door anderen in muizen of klinische trials getest). Zo willen we graag binnenkort een Prmt5 inhibitor gaan testen in onze modellen, omdat ██████████ belangrijk lijkt te zijn voor de activatie van de mTOR pathway en sterk opgereguleerd in in al onze aneuploide T-cel lymphomen.

Behandeling/ experiment opzet:

Voor elk experiment (type 1, 2 of 3) zullen we de benodigde experimentdieren (aneuploid T-cel lymphoom) en controle dieren (niet-aneuploide T-cel lymphoom) tumoren laten ontwikkelen. Deze tumoren zullen gelabeld zijn met een fluorescent reporter gen (Rosa26-stop-lox-stop-Tomato), zodat we de tumoren zodra ze ontstaan kunnen meten in de IVIS bodyscanner. Zodra we de tumoren kunnen meten (primaire tumor), zullen de muizen behandeld worden met muis-geoptimaliseerde doses\* (1 week behandeling, om de dag IP of IV injectie) van de te testen compounds. Tumorgrootte (en dus therapierespons) zal dan bepaald worden met de IVIS bodyscanner (meting ongeveer 1 x per week) en in enkele gevallen middels muis-MRI. Voor dit laatste zijn we momenteel aan het valideren of dit bovenop de IVIS scans toegevoegde waarde heeft. Indien de tumoren niet verdwijnen binnen 1-2 weken, zullen dieren

direct worden opgeofferd (non-respons). Tumoren zullen uitgebreid worden geanalyseerd middels de hierboven beschreven uitleesparameters. Indien de tumoren wel verdwijnen, zullen dieren gevolgd worden voor het ontstaan van recidief tumoren wederom door 1 x per week fluorescentie te meten in de IVIS bodyscanner. Indien geen recidief ontreedt, zullen de muizen maximaal 3 maanden gevolgd worden met IVIS imaging en dan worden opgeofferd (behandeling is curatief). Muizen met recidief worden of direct opgeofferd (gevolgd door uitgebreide analyse: recidieftumoren) of eventueel opnieuw behandeld worden om eventueel opgetreden therapie-resistentie te meten (zie ook onder B 'aantallen dieren'). Als de tumoren niet verdwijnen door recidief therapie (~2 weken behandeling) zullen dieren opgeofferd worden (therapieresistent recidief). Dieren waarbij het recidief wel verdwijnt, zullen ook gevolgd worden met IVIS imaging (1x per week) tot er weer een tumor ontstaat (waarop uitgebreide analyse gedaan zal worden; tweede recidief) of voor maximaal 3 maanden na de laatste behandeling (behandeling curatief).

\* Voor de behandeling van de dieren zullen we dosering gebruiken zoals gebruikt in relevante literatuur: In geval van [redacted] is dit 0.5 mg/kg (Li et al, J Clin Invest. 2015 Mar 2;125(3):1081-97), in geval van [redacted] is dit tot 30 mg/kg ([redacted]), voor [redacted] 25mg/kg (Sharp et al, Am J Physiol Renal Physiol. 2016 Jan 6:ajprenal.00512.2015), voor [redacted] (Zhou et al, Innate Immun. 2015 Oct;21(7):698-705) en voor [redacted] (Shi et al, J Hematol Oncol. 2016 Feb 18;9(1):12), (Siman et al, PLoS One. 2015 Nov 5;10(11):e0142340), en (Cullion et al, Blood. 2009 Jun 11;113(24):6172-81).

---

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Per therapie willen we de respons in totaal 20 experiment dieren vergelijken met die in 20 controle dieren. Dit getal volgt een power-analyse. In dit geval is de variatiecoëfficiënt sigma vooraf niet bekend; de proefgrootte wordt daarom afgelezen van een uit Owen afgeleide grafiek (Proefdieren en Dierproeven, L.F.M van Zutphen, vijfde druk, 2009, blz 211). Voor dit experiment stellen we een onbetrouwbaarheidsdrempel (alpha) van 0.05 of een power (pi) van > 0.8 en een verhouding tussen het te meten verschil ( $\mu_1 - \mu_2$ ) en variatiecoëfficiënt op ongeveer 1.5. Dit laatste betekent dat er bij een spreiding van ongeveer 2 maanden in de overleving binnen 1 groep een significant verschil gemeten wordt als de gemiddelde overleving tussen experiment en controlegroep minimaal 3 maanden uit elkaar ligt; een spreiding van ongeveer 2 maanden binnen een cohort is gemiddeld binnen onze bestaande T-ALL muismodellen. Er valt dan uit de grafiek af te lezen dat de proefgrootte ongeveer 20 dieren dient te zijn.

Echter, omdat we van te voren niet zeker weten of een therapie enig effect geeft, zullen we voor iedere therapie eerst een pilot uitvoeren op 5 aneuploide en 5 niet aneuploide dieren om globaal de tumorrespons te meten. Dieren zullen worden opgeofferd zodra de tumoren terugkomen of niet verdwijnen. Op deze wijze leren we ook al iets over de latentie van een mogelijk recidief. Als de therapie lijkt te werken, zullen we een groter cohort testen (go/no-go keuzemoment). We zullen dan 15 extra aneuploide en 15 extra niet aneuploide dieren behandelen met de therapie. Van deze uitgebreidere groepen zullen we 10 aneuploide/niet aneuploide dieren opnieuw behandelen om therapieresistentie te bepalen, de overige 5 zullen direct worden opgeofferd als de tumor is teruggekomen. Op deze wijze kunnen we voor 10 muizen per therapie materiaal verzamelen van een primair recidief en in 10 muizen kijken of dit recidief resistent geworden is voor therapie. Tumoren zullen worden onder meer geanalyseerd op (extra) mutaties, transcriptoomveranderingen en aneuploidie zoals beschreven onder de primaire uitkomstparameters.

---

## B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levenstadia. Onderbouw deze keuzes.

Alle experimenten zullen worden uitgevoerd op transgene muizen. We maken gebruik van mannen en vrouwen, omdat we geen verschil verwachten tussen de sexes. Voor dit type dierproef zullen alleen volwassen muizen uit eigen fok (heel soms bestellen we dieren vanuit extern, zoals van Jackson Labs) gebruikt worden, in sommige gevallen zullen dieren als jong volwassene al behandeld worden op Cre te activeren. Binnen dit type dierproef zullen we de volgende

cohorten volgen:

Per te testen therapie zullen we 40 dieren gebruiken; 10 voor de pilot (5 per genotype) en 30 (15 per genotype), voor het uiteindelijke experiment (zie voor motivatie pilot en uiteindelijk experiment onder statistische methoden).

We willen de volgende behandelingen testen:

- ██████████ (om te testen of verergeren van chromosomale instabiliteit aneuploide tumoren doodt en of dit eerder leidt tot resistente tumoren met als controle ██████████ behandelde dieren. (3 x 40 = 120 dieren; type 1).
- ████████ om te testen of aneuploide tumoren slechter tegen ██████████ kunnen dan niet aneuploide tumoren (40 dieren, type 2).
- ██████████ om te testen of aneuploid T-cell lymfoom gevoeliger is dan niet aneuploid T-cell lymfoom voor ██████████ (40 dieren, type 2).
- Nader te bepalen compounds, te identificeren uit werk komende jaren, schatting 5 compounds: 200 dieren (type 3).

Subtotaal: 400 dieren

Voor dit type dierproef hoeven geen nieuwe stammen te worden gegenereerd. Wel moeten we de ██████████, de ████████ en de ██████████ T-ALL lijnen aanhouden, dit is fok met ongerief omdat een op de vier van de muizen T-cell lymfoom ontwikkelt.

Per jaar worden beide stammen 4 x gefokt en krijgen we ongeveer 20 nakomelingen per stam. Per jaar leidt dit dus tot 20 dieren met ongerief (4 x fokken, 20 nakomelingen per fok, 1 op de vier aangedaan), dus 100 dieren in totaal per stam voor de 5 jaar van deze aanvraag. Aangezien we 3 stammen met ongerief aanhouden vragen we hiervoor 300 dieren aan voor de loop van de aanvraag.

Subtotaal 300 dieren.

Totaal vragen we aan voor dit type dierproef: 700 dieren.

---

### C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

---

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

#### **D. Vervanging, vermindering en verfijning**

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Waar mogelijk doen we onze experimenten met celkweekexperimenten, maar het blijkt dat cellen in celkweek vaak anders op aneuploidie reageren dan cellen in hun eigen fysiologische niche. Daarom, om tot aneuploidie-selectieve therapie te komen, is het van cruciaal belang om aneuploidie in diermodellen te onderzoeken.

Alle compounds en behandelingen zullen eerst uitgebreid getest en gevalideerd worden in weefselkweek voordat ze in diermodellen getest zullen worden (vervanging en vermindering). We kiezen voor het testen van therapeutica bewust het T-ALL model, omdat het snel en reproduceerbaar is, waardoor we de latentie goed kunnen voorspellen (verfijning). Daarnaast labelen we de tumoren met een marker, zodat we de tumoren in een vroeg stadium kunnen zien, wat ongerief vermindert. Dit alles dient ter verfijning van de strategie. Verder gebruiken we binnen elk cohort dieren om te kijken of de tumor bestreden kan worden, of de tumor terugkomt en of de teruggekomen tumor resistent is geworden. Hiermee beantwoorden we drie vragen per therapie middels 1 cohort (vermindering).

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Dieren zullen behandeld worden voordat ze ongerief ondervinden van de tumoren. Aangezien we dit model goed kennen en we de tumoren met IVS en mogelijk ook enkele dieren met MRI zullen visualiseren, zullen de dieren minimaal ongerief ondervinden. Omdat we de dosering van de therapeutica baseren op literatuurwaarden kunnen we eventuele bijwerkingen van de therapeutica tot een minimum beperken. Deze bijwerkingen leiden meest waarschijnlijk in eerste instantie tot gewichtsverlies, iets wat we nauwgezet zullen volgen door de dieren regelmatig te inspecteren (minimaal 2 keer per week door onderzoeker en dagelijks door diervoorzorging).

### **Herhaling en duplicering**

#### **E. Herhaling**

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Deze proeven zijn nog niet eerder uitgevoerd. Hiervoor hebben we een uitgebreide zoekopdracht op PubMed uitgevoerd en daarnaast gesproken met onze diverse collega's die dit soort modellen ontwikkelen ( [REDACTED] )

### **Huisvesting en verzorging**

#### **F. Huisvesting en verzorging**

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

## Ongeriefinschatting/humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

We zullen de dieren behandelen voor ze ernstig ziek worden van de (aneuploide) bloedkankers. We kennen de latentie van deze modellen goed en kunnen zo ongerief minimaliseren. Onze ervaring met dit model heeft ons geleerd dat de dieren geen ongerief hebben van de beginnende tumoren. In tweede instantie kunnen na behandeling opnieuw tumoren ontstaan die resistent zijn. Dit kan dit beginnend ongerief leiden wat zich op dezelfde wijze zal uiten als de bij ons bekende primare tumoren (kortademigheid, gewichtsverlies). Verder kunnen eventuele bijwerkingen van de therapie leiden tot gewichtverlies (tijdelijk verlies functionaliteit darmepitheel).

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Het meeste ongerief komt door de lymfomen die zullen ontstaan. Verder is er mild ongerief door de non-invasieve IVIS of MRI imaging. Tenslotte kunnen dieren ongerief ontwikkelen door de toe te passen therapeutica (verlies microvilli in darm door afdoden delende cellen (bijv. na [REDACTED])).

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Dieren zullen zeer regelmatig (minimaal 2 maal per week) uitgebreid geïnspecteerd worden door de onderzoekers en als dat we de tumoren verwachten 1 x per week met de IVIS worden bekeken. Enkele dieren zullen met MRI gescand worden afhankelijk van een momenteel lopende pilot in het lab. Daarnaast worden de dieren dagelijks door de diervoorzorging gecontroleerd. Dieren zullen worden behandeld met de te testen therapie of worden opgeofferd zodra ze het eerste meetbare ongerief van de kankers krijgen (toename fluorescent signaal op IVIS, gewichtsverlies, bleekheid ('witte oren'), kortademigheid). Bij dieren die therapie krijgen zal extra worden opgelet of ze nadelige effecten van de middelen ondervinden zoals gewichtsverlies. Om dit laatste type ongerief zoveel mogelijk te voorkomen zullen de dosering van de middelen aanpassen op de waarden genoemd in de literatuur, waar mogelijk en dieren extra te monitoren tijdens de behandeling. Tenslotte zullen dieren worden opgeofferd als de therapie niet aanslaat (bij geen respons binnen 2 weken na start therapie).

#### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

In de minderheid van de gevallen zullen dieren dusdanig ernstig ziek worden dat de op basis van humane eindpunten opgeofferd dienen te worden. Dit zal zijn als de dieren moribund zijn, lethargisch zijn, >20% van hun gewicht verloren zijn of ernstige (vecht)wonden hebben.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

We streven ernaar dat zo min mogelijk dieren dit criterium zal halen, onze ervaring met deze modellen leert dat dit percentage in de praktijk onder de 5 % ligt.

#### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Het cumulatief ongerief schatten we in als matig.

### Einde experiment

#### L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Dieren zullen uitgebreid worden onderzocht op macroscopische pathologie en tumoren zullen worden opgestuurd voor histologie. Verder zullen aangedane organen worden opgeslagen voor verder onderzoek (eiwit, RNA, DNA, en aneuploidie analyses)

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja

# Format DEC-advies

*Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de bijbehorende toelichting, waarin elke stap in het beoordelingsproces wordt toegelicht*

## A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: (Intern RUG code **8045**)

Titel van het project: **Ontwikkeling van aneuploidie-targeting therapie**

Titel van de NTS: **Zoeken naar aneuploidie specifieke kankertherapie**

2. Type aanvraag:

- nieuwe aanvraag projectvergunning

3. Contactgegevens DEC:

naam DEC : **DEC-RUG**

telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]

mailadres contactpersoon : [REDACTED]

4. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):

- ontvangen door DEC: **13-01-2016**
- aanvraag complete: **13-01-2016**
- in vergadering besproken: **22-01-2016**
- anderszins behandeld: **09-03-2016**
- termijnonderbreking(en) van / tot: **22-01-2016 tot 23-02-2016**
- besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen. **n.v.t.**
- aanpassing aanvraag: **23-02-2016**
- advies aan CCD: **15-03-2016**

5. Eventueel horen van aanvrager **n.v.t.**

- Datum
- Plaats
- Aantal aanwezige DEC-leden
- Aanwezige (namens) aanvrager
- Strekking van de vraag / vragen
- Strekking van het (de) antwoord(en)



- Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag

6. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: **22-01-2016**
- Strekking van de vraag / vragen:

**Gevraagd is om de primaire uitkomst parameters scherper te definiëren en om de aantallen benodigde dieren beter te motiveren. M.b.t. de MRI scans is gevraagd naar de praktisch uitvoerbaarheid en of er sprake is van een duidelijke fasering. Bij de beoogde behandeling wordt vooral achtergrond gegeven over de diverse cytostatica. Gevraagd is om dit beter te specificeren (welke doses, hoe bepaald, eerder werk, referenties). Er is verder gevraagd of een prioritering mogelijk zou zijn in de keuze van de weefsels waarin de therapie wordt getest. Hierbij zou weefsel met, naar verwachting, de meest succesvolle uitkomst voor wat betreft tumorinductie /therapie de eerste prioriteit moeten krijgen.**

-Datum antwoord: **23-02-2016**

Strekking van het (de) antwoord(en): **De gevraagde verduidelijkingen zijn verwerkt in het projectvoorstel en de bijlages. De antwoorden hebben geleid tot uitgebreide aanpassing van de aanvraag.**

7. 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
- Expert advies

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

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet) **Ja.**
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag. **Ja.**
3. De DEC is competent om hierover te adviseren. **Ja**
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering. **NVT.**

## C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:
  - uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord **Ja**.
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) is / zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en). **Ja**.
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als **substantieel**.
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Naar de overtuiging van de DEC beschikt de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen om de projectdoelstelling met de gekozen strategie / aanpak binnen de gevraagde termijn te realiseren. **Ja, de experimenten die zijn voorgesteld zijn prima en gangbaar van opzet. Op deze wijze zal kennis over de behandeling van aneuploide tumoren verkregen worden. Aanvrager heeft ruime ervaring in dit veld en werkt samen met andere vooraanstaande wetenschappers. Waar nodig wordt kennis en expertise via samenwerkingen verkregen.**
5. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd. **De onderzoekers gebruiken de muis, de keuze hiervoor is wetenschappelijk ruim voldoende onderbouwd**
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. **Ja, die is realistisch ingeschat**
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen. **Nee. Dit werk kan in essentie alleen in levende, intacte organismen worden uitgevoerd**
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren lijkt realistisch ingeschat. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. **Ja, het aantal dieren is beperkt tot wat**

**wetenschappelijk kan worden verantwoord. Beide geslachten worden gebruikt, experimenten worden via pilots gefaseerd uitgevoerd om het aantal te beperken en gedood in voorraad te minimaliseren**

9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de behandeling van de dieren zo humaan mogelijk wordt uitgevoerd. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten. **Ja, experimenten worden zodanig gedaan dat ongerief tot een minimum wordt beperkt. Aneuploidie wordt opgewekt in weefsels waarvan de verwachting is dat de muizen er relatief weinig last van hebben. De meeste kennis betreffende dit soort onderzoek bestaat en is verkregen in muizen. Er zijn geen belangwekkende milieueffecten te verwachten.**

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

## **D. Ethische afweging**

Twee van de drie tumoren zijn aneuploide, en het omliggende normale weefsel is dat niet. Het hier voorgestelde onderzoek biedt een uitstekend aanknopingspunt om therapieën of strategieën te ontwikkelen die specifiek op aneuploide cellen zijn gericht. De DEC acht de kans groot dat de beoogde doelstelling van het onderzoek gehaald wordt. Het mogelijke maatschappelijk belang is helder, kanker is een veel voorkomende ziekte met grote maatschappelijke, sociale en economische gevolgen. Betere, specifiekere behandelings-methoden zijn van groot belang. Onderzoek naar mogelijke therapieën die zich specifiek richten op aneuploide cellen en wat de gevolgen daarvan zijn voor een weefsel/organisme zijn een belangrijke en noodzakelijke stap naar nieuwe en betere therapie voor de mens. Dergelijk onderzoek is alleen uit te voeren in dieren, en met name in muizen waarin veel genetisch gemodificeerde stammen beschikbaar zijn. Het gebruik van de diersoort zoals hier benoemd is daarom te rechtvaardigen. Hoewel de dieren worden geschaad in hun belangen (ze ervaren eventueel ongerief door de experimentele handelingen) is dit door de onderzoekers zo veel mogelijk beperkt (zie hierboven. DE DEC oordeelt dan ook dat het

**wetenschappelijk en op termijn maatschappelijk belang van het onderzoek opweegt tegen het aangebrachte ongerief.**

## **E. Advies**

### 1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning te verlenen

Het uitgebrachte advies is gebaseerd op **consensus**.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan  
9713 AV GRONINGEN



**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  
AVD105002016466

**Bijlagen**

2

Datum 16 maart 2016

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte heer/mevrouw ,

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 16 maart 2016.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD105002016466. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

**Wacht met de uitvoering van uw project**

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

**Factuur**

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te voldoen, zodat we uw aanvraag in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan kan uw aanvraag buiten behandeling worden gesteld. Dit betekent dat uw aanvraag niet beoordeeld wordt en u uw project niet mag starten.

**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).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

### **Gegevens aanvrager**

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 10500  
Naam instelling of organisatie: Rijksuniversiteit Groningen  
Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde: [REDACTED]  
KvK-nummer: 01179037  
Straat en huisnummer: A. Deusinglaan [REDACTED]  
Postcode en plaats: 9713AV GRONINGEN

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]  
Functie: Universitair docent  
Afdeling: [REDACTED]  
E-mailadres: [REDACTED]

Gegevens verantwoordelijke uitvoering proces

Naam: [REDACTED]  
Functie: Universitair docent  
Afdeling: [REDACTED]  
Telefoonnummer: [REDACTED]  
E-mailadres: [REDACTED]

Gegevens gemachtigde

Postcode en plaats:

GRONINGEN

Wat mag de gemachtigde doen?

- Een projectvergunning aanvragen
- Een wijziging op een verleende projectvergunning aanvragen
- Een melding doorgeven op een verleende projectvergunning
- Een bezwaarschrift indienen en daarover communiceren met de Centrale Commissie Dierproeven en alle andere handelingen verrichten die nodig zijn voor een goede afwikkeling van het bezwaarschrift
- Alle bovenstaande opties

#### **Over uw aanvraag**

Wat voor aanvraag doet u?

- Nieuwe aanvraag
- Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

#### **Over uw project**

Geplande startdatum:

1 april 2016

Geplande einddatum:

31 maart 2021

Titel project:

Ontwikkeling van aneuploidie-targeting therapie

Titel niet-technische samenvatting:

Zoeken naar aneuploidie specifieke kankertherapie

Naam DEC:

DEC-RUG

Postadres DEC:

A. Deusinglaan 1, XXXXXXXXXX

E-mailadres DEC:

secrdec.umcg@umcg.nl

#### **Betaalgegevens**

De leges bedragen:

€ 935,-

De leges voldoet u:

na ontvangst van de factuur

#### **Checklist bijlagen**

Verplichte bijlagen:

- Projectvoorstel
- Beschrijving Dierproeven
- Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen:

- Melding Machtiging
- DEC-advies



**Ondertekening**

Naam:

[REDACTED]

Functie:

[REDACTED]

Plaats:

GRONINGEN



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan  
9713 AV GRONINGEN



**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  
AVD105002016466

**Bijlagen**

2

Datum 16 maart 2016  
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**

Factuurdatum: 16 maart 2016  
Vervaldatum: 15 april 2016  
Factuurnummer: 16700466

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD105002016466	€ 935,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL41RBOS 056.999.6317 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan  
9713 AV Groningen

**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
www.centralecommissiedierproeven.nl  
T 0900-28 000 28 (10 ct /min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD105002016466

**Uw referentie**  
uw ref

**Bijlagen**  
1

Datum 06 mei 2016

Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte

Op 16 maart 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Ontwikkeling van aneuploidie-targeting therapie" met aanvraagnummer AVD105002016466. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

**Welke informatie nog nodig**

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om uw aanvraag verder te kunnen beoordelen:

**Onduidelijkheden**

1) In de Niet technische samenvatting heeft u de doelcategorie "Translationeel of toegepast onderzoek" aangekruist, terwijl dit in de projectaanvraag niet is aangekruist. Graag dit consistent maken.

2) In de NTS maakt u een onderscheid in ongerief licht tot ernstig. Dit onderscheid is niet weergegeven in uw projectvoorstel. In de bijlage onder vraag D beschrijft u dat de dieren worden behandeld voordat ze ongerief ondervinden van de tumoren, en de dieren minimaal ongerief zullen ondervinden. Kunt u het ongerief in het projectvoorstel nader opsplitsen en vermelden waardoor het ongerief ontstaat?

3) Onder vraag 3.4 Onderzoeksstrategie schrijft u dat u de kennis gegenereerd in het parallel ingediende projectvoorstel (AVD105002016465) zult gebruiken in de onderliggende aanvraag. In afwachting van een besluit op de aanvraag AVD105002016465, zou de huidige aanvraag kunnen starten, en in hoeverre kan deze worden uitgevoerd indien de parallelle aanvraag later of niet wordt vergund?

Wij vragen u deze informatie te verduidelijken.

Zonder deze aanvullende informatie kan de beslissing nadelig voor u uitvallen omdat de gegevens onvolledig of onduidelijk zijn.

**Datum**

06 mei 2016

**Onze referentie**Aanvraagnummer  
AVD105002016466**Opsturen binnen veertien dagen**

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Stuur u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt.

**Wanneer een beslissing**

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

**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).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

**Bijlage:**

- formulier Melding Bijlagen via de post



## Melding

### Bijlagen via de post

- U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen? Voeg *altijd* deze Melding Bijlagen toe. Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt.
- Meer informatie vindt u op [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)
- Of bel met ons: 0900 28 000 28 (10 ct/min).

### 1 Uw gegevens

- 1.1 Vul de gegevens in.
- |                |  |            |
|----------------|--|------------|
| Naam aanvrager |  |            |
| Postcode       |  | Huisnummer |
- 1.2 Bij welke aanvraag hoort de bijlage?  
*Het aanvraagnummer staat in de brief of de ontvangstbevestiging.*
- |                |  |
|----------------|--|
| Aanvraagnummer |  |
|----------------|--|

### 2 Bijlagen

- 2.1 Welke bijlagen stuurt u mee?  
*Vul de naam of omschrijving van de bijlage in.*
- |                          |  |
|--------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> |  |
| <input type="checkbox"/> |  |
| <input type="checkbox"/> |  |

### 3 Ondertekening

- 3.1 Onderteken het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:
- |              |   |      |
|--------------|---|------|
| Naam         |   |      |
| Datum        | - | - 20 |
| Handtekening |   |      |
- Centrale Commissie  
Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag

**Van:** [REDACTED]  
**Verzonden:** maandag 9 mei 2016 11:02  
**Aan:** Info-zbo; [REDACTED]  
**Onderwerp:** RE: AVD105002016466\_aanhouden.beoordelen  
**Bijlagen:** Bijlage\_1\_aanvraag [REDACTED].AVD105002016466.docx; NTS\_aanvraag  
 Foijer\_AVD105002016466.docx; Projectvoorstel\_aanvraag  
 Foijer\_AVD105002016466.docx

Beste [REDACTED],

Hierbij ontvangt U de aangepaste documenten met hieronder de toelichting over de aanpassingen.

U stelde de volgende vragen:

*1) In de Niet technische samenvatting heeft u de doelcategorie "Translationeel of toegepast onderzoek" aangekruist, terwijl dit in de projectaanvraag niet is aangekruist. Graag dit consistent maken.*

**Antwoord:** Dit is nu consistent gemaakt: in beide aanvragen staat fundamenteel en toegepast aangekruist.

*2) In de NTS maakt u een onderscheid in ongerief licht tot ernstig. Dit onderscheid is niet weergegeven in uw projectvoorstel. In de bijlage onder vraag D beschrijft u dat de dieren worden behandeld voordat ze ongerief ondervinden van de tumoren, en de dieren minimaal ongerief zullen ondervinden. Kunt u het ongerief in het projectvoorstel nader opsplitsen en vermelden waardoor het ongerief ontstaat?*

**Antwoord:** in de aangepaste bijlage\_1 is nu duidelijk onderscheid gemaakt in de categorieën licht, matig en ernstig en toegelicht hoe dit ontstaat.

*3) Onder vraag 3.4 Onderzoeksstrategie schrijft u dat u de kennis gegenereerd in het parallel ingediende projectvoorstel (AVD105002016465) zult gebruiken in de onderliggende aanvraag. In afwachting van een besluit op de aanvraag AVD105002016465, zou de huidige aanvraag kunnen starten, en in hoeverre kan deze worden uitgevoerd indien de parallelle aanvraag later of niet wordt vergund?*

**Antwoord:** Het merendeel van de aangevraagde dieren (500) zal gebruikt worden voor het testen van reeds gedefinieerde therapie die we willen testen op basis van al bestaande kennis ([REDACTED]). Deze proeven kunnen we uitvoeren onafhankelijk van de uitkomst van aanvraag AVD105002016465. De experimenten die afhangen van de kennis gegenereerd uit AVD105002016465 zijn pas voor de laatste 2 jaar van deze aanvraag gepland (200 dieren). We verwachten deze kennis dan reeds gegenereerd te hebben, wat inderdaad wel afhangt van het uiteindelijk toekennen van het werk voorgesteld in aanvraag AVD105002016465. Dit is nu beter toegelicht onder 3.4.3 van de projectaanvraag.

Zou U willen laten weten of U onze antwoorden en documenten in goede orde heeft ontvangen?

Alvast hartelijk dank en met vriendelijke groet

---

**Van:** Info-zbo [info@zbo-ccd.nl]

**Verzonden:** vrijdag 6 mei 2016 16:08

**Aan:** [REDACTED]

**CC:** [REDACTED]

**Onderwerp:** AVD105002016466\_aanhouden.beoordelen

Beste [REDACTED]

Bijgevoegde brief wordt u niet meer per post toegestuurd. In principe heeft u 14 dagen de tijd om de vragen te beantwoorden. Wij willen u echter vragen om uiterlijk donderdag 12 mei op de vragen te beantwoorden, zodat uw aanvraag in de eerstvolgende CCD vergadering besproken kan worden.

Met vriendelijke groet,

[REDACTED]

Centrale Commissie Dierproeven

---

De inhoud van dit bericht is vertrouwelijk en alleen bestemd voor de geadresseerde(n). Anderen dan de geadresseerde(n) mogen geen gebruik maken van dit bericht, het niet openbaar maken of op enige wijze verspreiden of vermenigvuldigen. Het UMCG kan niet aansprakelijk gesteld worden voor een incomplete aankomst of vertraging van dit verzonden bericht.

The contents of this message are confidential and only intended for the eyes of the addressee(s). Others than the addressee(s) are not allowed to use this message, to make it public or to distribute or multiply this message in any way. The UMCG cannot be held responsible for incomplete reception or delay of this transferred message.



## Format Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

### 2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven



### 3 Algemene projectbeschrijving

#### 3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Elke celdeling wordt ons erfelijk materiaal gerepliceerd en verdeeld over de twee nieuwe ontstane dochtercellen. Soms maken cellen een fout bij het verdelen van de chromosomen en ontstaan er twee cellen met een afwijkende hoeveelheid DNA. Dit proces noemen we chromosomale instabiliteit; de cellen met afwijkende hoeveelheden chromosomen noemen we aneuploïde. Kankercellen maken dit soort van fouten frequent en **twee van de drie tumoren zijn dan ook aneuploïde**. Omdat de omliggende gezonde cellen zelden tot niet aneuploïde zijn, vormt aneuploïdie een veelbelovend aangrijppunt voor kankertherapie. Om tot zulke therapie te kunnen komen, moeten we eerst beter begrijpen waarom de meeste kankers aneuploïde zijn en dus wat de gevolgen zijn van aneuploïdie voor het ontstaan van kanker.

Hiertoe zijn in de afgelopen 15 jaar diverse muismodellen gemaakt waarin systemisch (dus in alle weefsels van de muis) aneuploïdie werd geprovoceerd. In deze modellen werden genen uitgeschakeld in het 'mitotic spindle checkpoint', een mechanisme dat in mitose bepaalt of alle chromosomen correct gebonden zijn aan de mitotische spoel. Het inactiveren van dit mechanisme leidt tot frequente fouten in de chromosoomverdeling en dus tot aneuploïdie. Het systemisch inactiveren van genen in het mitotic spindle checkpoint leidt in alle gevallen tot vroege embryonale letaliteit (~E6.5). Heterozygote dieren lieten milde aneuploïdie zien en in sommige gevallen een iets verhoogde frequentie van kankers (als de dieren een kankerpredispositie lieten zien, ontwikkelde ongeveer 1/3 van de dieren tumoren na 18-24 maanden) (zie voor review: ██████████). In veel gevallen waren deze dieren wel gevoeliger voor geïnduceerde kankers (bijvoorbeeld door het inactiveren van ██████ of het blootstellen aan carcinogene stoffen). Samengevat hebben deze modellen ons geleerd dat chromosomale instabiliteit kanker versnelt maar dat het (in de muis) geen primaire oorzaak is van kanker. Verder lieten enkele van de modellen versnelde veroudering zien, wat suggereert dat aneuploïdie ook gerelateerd is aan veroudering. Ondanks dat deze modellen wel de relatie tussen aneuploïdie, kanker en veroudering hebben geschetst, zijn deze modellen minder geschikt om de moleculaire gevolgen van aneuploïdie in kanker te onderzoeken, omdat de tumoren in deze modellen zeldzaam zijn, in diverse weefsels ontstaan en pas laat in het leven van de muis. Om in deze modellen de gevolgen van aneuploïdie in kaart te brengen zouden onnodig veel dieren nodig zijn.

Wij hebben daarom conditionele knockout (cKO) muizen gemaakt, waarin we in weefsels naar keuze het mitotic spindle checkpoint kunnen uitschakelen (█████2 cKO) of verzwakken (█████ cKO). Middels deze modellen onderzoeken we wat te moleculaire gevolgen zijn van aneuploïdie voor weefselontwikkeling, en verder hoe aneuploïdie leidt tot kanker. In deze modellen kunnen we ernstige aneuploïdie veroorzaken op weefselniveau en op deze wijze hebben we een tumormodel (T-cell acute lymphoblastic lymphoma) kunnen ontwikkelen, waarin 100% van de muizen binnen 3 maanden (████████████████████) (████████████████████) of 4 maanden (████████████████████) (████████████████████) aneuploïde lymphomen ontwikkelen. Dankzij deze modellen hebben we een zeer reproduceerbaar en gedefinieerd tumorcohort kunnen genereren, en kunnen we beter de moleculaire gevolgen van aneuploïdie in kaart brengen.

Zoals de eerdere modellen al suggereerden, laten ook onze modellen zien dat chromosomale instabiliteit alleen niet voldoende is voor kanker. We hebben dit



therapieën zoals [REDACTED]. Daarnaast zullen de experimenten beschreven in het in parallel ingediende projectvoorstel leiden tot verder begrip van hoe kankercellen zich aanpassen aan de nadelen van aneuploidie. Als we beter weten hoe cellen in de diverse weefsels zich aanpassen aan aneuploidie, dan kunnen we hierop ingrijpen met small molecule compounds (vergelijkbaar als [REDACTED]) en daarmee de aneuploïde cellen mogelijk specifiek doden. Dergelijke kandidaat compounds zullen eerst uitgebreid in celweek getest worden, maar willen we uiteindelijk ook testen in onze muismodellen voor aneuploïde kanker om het te bewijzen mechanisme *in vivo* te valideren. Belangrijk om te vermelden is ook dat het testen van deze compounds geen systematische screening van compounds vanuit de farma betreft, maar gericht gekozen compounds die selectief pathways targetten zoals [REDACTED] of compounds te ontdekken vanuit ons andere projectvoorstel en dienen om het moleculair mechanisme beter te begrijpen.

**Haalbaarheid:** De hierboven benoemde vraag kunnen we beantwoorden met de dierexperimenten beschreven in dit voorstel. Voor de gestelde vraag zijn de modellen al beschikbaar, of kunnen we de modellen genereren samen met [REDACTED] [REDACTED]. In dit voorstel zullen we interfereren met processen die van aneuploïdie cellen een kanker cel maken om aneuploïde kanker te bestrijden. Dit zal in eerste instantie gebeuren middels bekende kankertherapeutica, dosering en protocol zijn dus bekend, maar deze therapeutica zijn nog nooit specifiek op dit soort van diermodellen getest. Dit levert dus kennis op over de efficiëntie van deze therapeutica in de behandeling van aneuploïdie tumoren. Daarnaast biedt het de mogelijkheid om onze modellen te valideren voor dit soort van preklinische tests. Het door ons in parallel ingediend projectvoorstel zal leiden tot nieuwe therapeutica die aneuploïde cellen kunnen doden. Alvorens we dit soort van kandidaat compounds in de muis zullen testen, zullen we, zoals aangegeven, deze eerst uitgebreid *in vitro* testen (zoals we reeds doen voor [REDACTED] als beschreven in Tang et al).

### 3.3 Belang

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

Het primaire belang van dit onderzoek is wetenschappelijk. 2 van de 3 kankers zijn aneuploïde. Ondanks dit gegeven, zijn er nog geen therapieën beschikbaar die selectief aneuploïde cellen kunnen bestrijden, terwijl aneuploïde zo'n belangrijk onderscheidende factor van 'gezonde' lichaamcellen is. Om tot dergelijke therapie te komen, moeten we eerst beter begrijpen hoe cellen en weefsels omgaan met aneuploïdie, kennis die we vergaren vanuit een parallel ingediend projectvoorstel. Dit doen we waar mogelijk met celweekexperimenten, maar het blijkt dat cellen in celweek vaak anders op aneuploïdie reageren dan cellen in hun eigen fysiologische niche. Daarom, om tot aneuploïdie-selectieve therapie te komen, is het van cruciaal belang om aneuploïdie in diermodellen de onderzoeken. Onze modellen zijn wereldwijd uniek en hebben al belangrijke resultaten opgeleverd over aneuploïdie en de gevolgen daarvan. In deze experimenten werken we deze bevindingen verder uit en komen we stap voor stap steeds dichterbij mogelijke therapieën die selectief aneuploïde cellen kunnen doden, welke zeer belangrijk kunnen worden in de behandeling van 2 van de 3 kankers, maar mogelijk ook kunnen helpen veroudering beter te begrijpen om uiteindelijk de gevolgen van het ouder worden te kunnen vertragen (healthy ageing), twee zeer belangrijke maatschappelijke belangen. Dit doen we waar mogelijk met celweekexperimenten, maar het blijkt dat cellen in celweek vaak anders op aneuploïdie reageren dan cellen in hun eigen fysiologische niche. Daarom, om tot aneuploïdie-selectieve therapie te komen, is het van cruciaal belang om aneuploïdie in diermodellen de onderzoeken.

### 3.4 Onderzoeksstrategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

Het doel van deze aanvraag is komen tot manieren om aneuploïde (kanker)cellen selectief te doden. Hiertoe nemen we de volgende benaderingen:

- 1) We zullen onze bestaande muismodellen voor aneuploïde kanker behandelen met bestaande therapeutica (bijv. ██████████) om te kijken of er verschillen zijn in de uitkomst bij middelen die DNA schade provoceren (zoals ██████████) en middelen die chromosomale instabiliteit veroorzaken/verergeren (██████████). Aangezien deze middelen in de kliniek toegepast worden is dosering en toxiciteit bekend.
- 2) We zullen onze bestaande muismodellen voor aneuploïde kanker gebruiken om de nieuw gevonden aneuploïdy targeting compounds ██████████ te testen in hun effectiviteit om aneuploïde kanker te genezen.
- 3) We zullen de kennis gegenereerd vanuit het in parallel ingediend projectvoorstel benutten om te komen tot nieuwe therapeutica die aneuploïde cellen selectief doden, welke we zullen testen in onze muismodellen voor aneuploïde kanker, zoals beschreven onder benaderingen 1 en 2.

Samenvattend zullen we, gebruikmakend van de kennis gegenereerd in het in parallel ingediend projectvoorstel, onze muismodellen eerst valideren voor het preklinisch testen van kankertherapeutica, om daarna deze muismodellen te gebruiken voor het feitelijk preklinisch testen van te valideren en nieuw te ontdekken aneuploïdie-targeting therapeutica.

---

#### 3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

---

In dit project stellen we 1 hoofdvraag:

1. Hoe kan aneuploïde kanker specifiek bestreden worden?

Deze vraag zullen we beantwoorden middels 1 dierproeftype:

- Interventiemodellen voor aneuploïde kanker.

---

#### 3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

---

In dit voorstel zullen we bestaande kennis uit mijn lab en nieuw te genereren kennis omzetten in therapie. Voor de bekende in vivo te valideren compounds (██████████) kunnen we direct beginnen, omdat het mechanisme van deze middelen bekend is en we deze middelen uitgebreid in vitro getest hebben (benaderingen 1 en 2 onder 3.4.1). In de eerste twee jaar zullen we dan ook beginnen met het testen van ██████████ behandeling (in vergelijking met ██████████) van aneuploïde kankers (om de aneuploïdie zelf de verergeren) om te testen of dit in geval van aneuploïde kankers juist een goed (cellen gaan dood) of slecht (aneuploïde cellen kunnen goed tegen aneuploïdie) idee is. Voor deze compounds zijn farmacokinetiek en -dynamiek in de muis bekend. In parallel zullen we testen of het ontregelen van het tumormetabolisme (██████████; wordt gebruikt bij herstel na hartoperaties in de mens, dosering dus afleidbaar) of het ontregelen van de heatshock response ██████████ een goede behandeling is voor aneuploïde tumoren. Daarnaast zullen we de eerste 3 jaar benutten om de effectiviteit van Prmt5 inhibitors en ██████████ te testen in onze aneuploïde tumor modellen. Ook deze middelen zijn al eerder in de muis gebruikt, maar nog nooit in de behandeling van aneuploïde kanker.

Het werk in mijn lab richt zich erop biologische processen bloot te leggen die aneuploïde cellen nodig hebben om maligne te worden (nieuw te genereren kennis). Deze processen zullen we chemisch gaan remmen of juist harder aanzetten om zo de aneuploïde kankercellen te doden in onze muismodellen voor aneuploïde kanker. Deze experimenten zullen we pas starten als 1) we de werking van deze nieuw te ontdekken compounds uitgebreid in weefselkweek

gevalideerd hebben, 2) er gevalideerde kandidaatgenen hebben uit de voorgaande vragen en 3) als de compounds veilig in de muis gebruikt kunnen worden (literatuurstudie of toxiciteitstesten). In het geval van nieuw te vinden compounds zullen we dan ook pas vanaf ongeveer jaar 3 kunnen beginnen.

---

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

Volgnummer	Type dierproef
1	Interventiemodellen voor aneuploïde kanker
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

#### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef                             |
|------------|--|
| 1          | Interventiemodellen voor aneuploide kanker |

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

#### 2 Beschrijving dierproeven

##### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

In dit type dierproef zullen we onze opgedane kennis over welke processen van aneuploide cellen aneuploide kankercellen maken valideren door dieren met aneuploide tumoren te behandelen met therapeutica die selectief aneuploide cellen doodmaakt. Deze experimenten dienen om 1) te valideren of onze muismodellen voor aneuploide kanker geschikt zijn als preklinische modellen, 2) om te kijken welke bestaande chemotherapeutica het meest geschikt zijn om aneuploide kanker te behandelen, en 3) om nieuwe middelen die selectief aneuploide kankercellen doden in celweek in vivo te valideren. Hiervoor maken we gebruik van onze krachtige T-ALL tumormodellen: aneuploide  T-ALL,  aneuploide T-ALL en controle (niet aneuploide)  T-ALL. In alle drie deze genotypes ontstaan tumoren in de thymus 3-5 maanden na geboorte, waarbij de eerste 2 genotypes aneuploide tumoren geven. We zullen in

deze dieren middels een genetische fluorescente reporter (Rosa-STOP-LOX-STOP-Tomato) alle knockout T-cellen rood labelen. Op deze wijze kunnen we middels de IVIS bodyscanner zien of de dieren al tumoren hebben ontwikkeld. Dieren met een beginnende tumor zullen dan behandeld gaan worden met de verschillende therapeutische regimes die ons onderzoek voorspelt te werken voor aneuploide kankers.

De primaire uitleesparameters voor dit dierproeftype zijn:

- tumorgrootte (te bepalen middels bloedmetingen en door de IVIS scanner (de tumoren zijn fluorescent gelabeld met een reporter gen). We zullen de tumorontwikkeling volgen in de tijd en in relatie tot de diverse te testen therapeutica. In een enkel geval zullen we dieren ook met MRI meten.
- tumor differentiatie/type: dit zullen we meten met flowcytometrie
- aneuploidie: we zullen de tumoren regelmatig valideren op aneuploidie middels metaphase spreads, interphase FISH en single cell sequencing. We zullen ook kijken of de aneuploidie verandert in tumoren die therapieresistent worden.
- tumor transcriptoom: we zullen kijken hoe de tumoren reageren op therapie en hoe de transcriptomen veranderen als de tumor resistent terugkomt.
- tumorgenoom: in geval van resistente tumoren zullen we mogelijk gaan kijken welke mutaties hieraan hebben bijgedragen met whole genome sequencing.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

De dieren zullen worden behandeld met drie 'types' therapeutica. Het eerste type betreft gevalideerde therapeutica die reeds gebruikt worden in de kliniek tegen kanker (bijvoorbeeld ██████████). In dit type experiment willen we kijken welk type bestaande therapie het beste werkt op aneuploide tumoren, met name omdat bepaalde therapie juist werkt door cellen ██████████) en de vraag is of dit een goed idee is bij aneuploide tumoren die al goed om kunnen gaan met aneuploidie of dat deze tumoren beter behandeld kunnen worden met DNA-schade inducerende compounds zoals ██████████

Type twee zijn therapeutica die wel gebruikt worden in de kliniek, maar nog niet in de bestrijding van kanker (bijv. ██████████). De dosering is hiervan bekend, maar het effect op (aneuploide) kanker nog niet. Een ander voorbeeld is ██████████ waar wij van denken dat het heel effectief zal zijn in de bestrijding van aneuploide T-cel lymphomen.

Het derde type therapeutica betreft nieuw te vinden middelen uit ons onderzoek in mijn lab. Deze therapeutica zullen we alleen gaan gebruiken als we de werkbare doet in de muis kennen (nieuwe compounds, door anderen in muizen of klinische trials getest). Zo willen we graag binnenkort een Prmt5 inhibitor gaan testen in onze modellen, omdat ██████████ belangrijk lijkt te zijn voor de activatie van de mTOR pathway en sterk opgereguleerd in in al onze aneuploide T-cel lymphomen.

Behandeling/ experiment opzet:

Voor elk experiment (type 1, 2 of 3) zullen we de benodigde experimentdieren (aneuploid T-cel lymphoom) en controle dieren (niet-aneuploide T-cel lymphoom) tumoren laten ontwikkelen. Deze tumoren zullen gelabeld zijn met een fluorescent reporter gen (Rosa26-stop-lox-stop-Tomato), zodat we de tumoren zodra ze ontstaan kunnen meten in de IVIS bodyscanner. Zodra we de tumoren kunnen meten (primaire tumor), zullen de muizen behandeld worden met muis-geoptimaliseerde doses\* (1 week behandeling, om de dag IP of IV injectie) van de te testen compounds. Tumorgrootte (en dus therapierespons) zal dan bepaald worden met de IVIS bodyscanner (meting ongeveer 1 x per week) en in enkele gevallen middels muis-MRI. Voor dit laatste zijn we momenteel aan het valideren of dit bovenop de IVIS scans toegevoegde waarde heeft. Indien de tumoren niet verdwijnen binnen 1-2 weken, zullen dieren



direct worden opgeofferd (non-respons). Tumoren zullen uitgebreid worden geanalyseerd middels de hierboven beschreven uitleesparameters. Indien de tumoren wel verdwijnen, zullen dieren gevolgd worden voor het ontstaan van recidief tumoren wederom door 1 x per week fluorescentie te meten in de IVIS bodyscanner. Indien geen recidief ontreedt, zullen de muizen maximaal 3 maanden gevolgd worden met IVIS imaging en dan worden opgeofferd (behandeling is curatief). Muizen met recidief worden of direct opgeofferd (gevolgd door uitgebreide analyse: recidieftumoren) of eventueel opnieuw behandeld worden om eventueel opgetreden therapie-resistentie te meten (zie ook onder B 'aantallen dieren'). Als de tumoren niet verdwijnen door recidief therapie (~2 weken behandeling) zullen dieren opgeofferd worden (therapieresistent recidief). Dieren waarbij het recidief wel verdwijnt, zullen ook gevolgd worden met IVIS imaging (1x per week) tot er weer een tumor ontstaat (waarop uitgebreide analyse gedaan zal worden; tweede recidief) of voor maximaal 3 maanden na de laatste behandeling (behandeling curatief).

\* Voor de behandeling van de dieren zullen we dosering gebruiken zoals gebruikt in relevante literatuur: In geval van ██████████ is dit 0.5 mg/kg (Li et al, J Clin Invest. 2015 Mar 2;125(3):1081-97), in geval van ██████████ is dit tot 30 mg/kg ██████████, voor ██████████ 25mg/kg (Sharp et al, Am J Physiol Renal Physiol. 2016 Jan 6:ajprenal.00512.2015), voor ██████████ 300 mg/kg (Zhou et al, Innate Immun. 2015 Oct;21(7):698-705) en voor ██████████ ~20 mg/kg mg/kg (Shi et al, J Hematol Oncol. 2016 Feb 18;9(1):12), (Siman et al, PLoS One. 2015 Nov 5;10(11):e0142340), en (Cullion et al, Blood. 2009 Jun 11;113(24):6172-81).

---

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Per therapie willen we de respons in totaal 20 experiment dieren vergelijken met die in 20 controle dieren. Dit getal volgt een power-analyse. In dit geval is de variatiecoëfficiënt sigma vooraf niet bekend; de proefgrootte wordt daarom afgelezen van een uit Owen afgeleide grafiek (Proefdieren en Dierproeven, L.F.M van Zutphen, vijfde druk, 2009, blz 211). Voor dit experiment stellen we een onbetrouwbaarheidsdrempel (alpha) van 0.05 of een power (pi) van > 0.8 en een verhouding tussen het te meten verschil ( $\mu_1 - \mu_2$ ) en variatiecoëfficiënt op ongeveer 1.5. Dit laatste betekent dat er bij een spreiding van ongeveer 2 maanden in de overleving binnen 1 groep een significant verschil gemeten wordt als de gemiddelde overleving tussen experiment en controlegroep minimaal 3 maanden uit elkaar ligt; een spreiding van ongeveer 2 maanden binnen een cohort is gemiddeld binnen onze bestaande T-ALL muismodellen. Er valt dan uit de grafiek af te lezen dat de proefgrootte ongeveer 20 dieren dient te zijn.

Echter, omdat we van te voren niet zeker weten of een therapie enig effect geeft, zullen we voor iedere therapie eerst een pilot uitvoeren op 5 aneuploide en 5 niet aneuploide dieren om globaal de tumorrespons te meten. Dieren zullen worden opgeofferd zodra de tumoren terugkomen of niet verdwijnen. Op deze wijze leren we ook al iets over de latentie van een mogelijk recidief. Als de therapie lijkt te werken, zullen we een groter cohort testen (go/no-go keuzemoment). We zullen dan 15 extra aneuploide en 15 extra niet aneuploide dieren behandelen met de therapie. Van deze uitgebreidere groepen zullen we 10 aneuploide/niet aneuploide dieren opnieuw behandelen om therapieresistentie te bepalen, de overige 5 zullen direct worden opgeofferd als de tumor is teruggekomen. Op deze wijze kunnen we voor 10 muizen per therapie materiaal verzamelen van een primair recidief en in 10 muizen kijken of dit recidief resistent geworden is voor therapie. Tumoren zullen worden onder meer geanalyseerd op (extra) mutaties, transcriptoomveranderingen en aneuploidie zoals beschreven onder de primaire uitkomstparameters.

---

## B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levenstadia. Onderbouw deze keuzes.

Alle experimenten zullen worden uitgevoerd op transgene muizen. We maken gebruik van mannen en vrouwen, omdat we geen verschil verwachten tussen de sexes. Voor dit type dierproef zullen alleen volwassen muizen uit eigen fok (heel soms bestellen we dieren vanuit extern, zoals van ██████████) gebruikt worden, in sommige gevallen zullen dieren als jong volwassene al behandeld worden op Cre te activeren. Binnen dit type dierproef zullen we de volgende

cohorten volgen:

Per te testen therapie zullen we 40 dieren gebruiken; 10 voor de pilot (5 per genotype) en 30 (15 per genotype), voor het uiteindelijke experiment (zie voor motivatie pilot en uiteindelijk experiment onder statistische methoden).

We willen de volgende behandelingen testen:

- ██████████ (om te testen of verergeren van chromosomale instabiliteit aneuploide tumoren doodt en of dit eerder leidt tot resistente tumoren met als controle ██████████ behandelde dieren. (3 x 40 = 120 dieren; type 1).
- ██████████ om te testen of aneuploide tumoren slechter tegen ██████████ kunnen dan niet aneuploide tumoren (40 dieren, type 2).
- ██████████ om te testen of aneuploid T-cell lymfoom gevoeliger is dan niet aneuploid T-cell lymfoom voor ██████████ (40 dieren, type 2).
- Nader te bepalen compounds, te identificeren uit werk komende jaren, schatting 5 compounds: 200 dieren (type 3).

Subtotaal: 400 dieren

Voor dit type dierproef hoeven geen nieuwe stammen te worden gegenereerd. Wel moeten we de ██████████, de ██████████ en de ██████████ T-ALL lijnen aanhouden, dit is fok met ongerief omdat een op de vier van de muizen T-cell lymfoom ontwikkelt.

Per jaar worden beide stammen 4 x gefokt en krijgen we ongeveer 20 nakomelingen per stam. Per jaar leidt dit dus tot 20 dieren met ongerief (4 x fokken, 20 nakomelingen per fok, 1 op de vier aangedaan), dus 100 dieren in totaal per stam voor de 5 jaar van deze aanvraag. Aangezien we 3 stammen met ongerief aanhouden vragen we hiervoor 300 dieren aan voor de loop van de aanvraag.

Subtotaal 300 dieren.

Totaal vragen we aan voor dit type dierproef: 700 dieren.

---

### C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

---

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

#### **D. Vervanging, vermindering en verfijning**

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Waar mogelijk doen we onze experimenten met celkweekexperimenten, maar het blijkt dat cellen in celkweek vaak anders op aneuploidie reageren dan cellen in hun eigen fysiologische niche. Daarom, om tot aneuploidie-selectieve therapie te komen, is het van cruciaal belang om aneuploidie in diermodellen te onderzoeken.

Alle compounds en behandelingen zullen eerst uitgebreid getest en gevalideerd worden in weefselkweek voordat ze in diermodellen getest zullen worden (vervanging en vermindering). We kiezen voor het testen van therapeutica bewust het T-ALL model, omdat het snel en reproduceerbaar is, waardoor we de latentie goed kunnen voorspellen (verfijning). Daarnaast labelen we de tumoren met een marker, zodat we de tumoren in een vroeg stadium kunnen zien, wat ongerief vermindert. Dit alles dient ter verfijning van de strategie. Verder gebruiken we binnen elk cohort dieren om te kijken of de tumor bestreden kan worden, of de tumor terugkomt en of de teruggekomen tumor resistent is geworden. Hiermee beantwoorden we drie vragen per therapie middels 1 cohort (vermindering).

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Dieren zullen behandeld worden voordat ze ongerief ondervinden van de tumoren. Aangezien we dit model goed kennen en we de tumoren met IVS en mogelijk ook enkele dieren met MRI zullen visualiseren, zullen de dieren minimaal ongerief ondervinden. Omdat we de dosering van de therapeutica baseren op literatuurwaarden kunnen we eventuele bijwerkingen van de therapeutica tot een minimum beperken. Deze bijwerkingen leiden meest waarschijnlijk in eerste instantie tot gewichtsverlies, iets wat we nauwgezet zullen volgen door de dieren regelmatig te inspecteren (minimaal 2 keer per week door onderzoeker en dagelijks door diervoorzorging).

### **Herhaling en duplicering**

#### **E. Herhaling**

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Deze proeven zijn nog niet eerder uitgevoerd. Hiervoor hebben we een uitgebreide zoekopdracht op PubMed uitgevoerd en daarnaast gesproken met onze diverse collega's die dit soort modellen ontwikkelen

### **Huisvesting en verzorging**

#### **F. Huisvesting en verzorging**

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

## Ongeriefinschatting/humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

We zullen de dieren behandelen voor ze ernstig ziek worden van de (aneuploide) bloedkankers. We kennen de latentie van deze modellen goed en kunnen zo ongerief minimaliseren. Onze ervaring met dit model heeft ons geleerd dat de dieren geen ongerief hebben van de beginnende tumoren. In tweede instantie kunnen na behandeling opnieuw tumoren ontstaan die resistent zijn. Dit kan dit beginnend ongerief leiden wat zich op dezelfde wijze zal uiten als de bij ons bekende primare tumoren (kortademigheid, gewichtsverlies). Verder kunnen eventuele bijwerkingen van de therapie leiden tot gewichtverlies (tijdelijk verlies functionaliteit darmepitheel).

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Het meeste ongerief komt door de lymfomen die zullen ontstaan. Verder is er mild ongerief door de non-invasieve IVIS of MRI imaging. Tenslotte kunnen dieren ongerief ontwikkelen door de toe te passen therapeutica (verlies microvilli in darm door afdoden delende cellen (bijv. ██████████

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Dieren zullen zeer regelmatig (minimaal 2 maal per week) uitgebreid geïnspecteerd worden door de onderzoekers en als dat we de tumoren verwachten 1 x per week met de IVIS worden bekeken. Enkele dieren zullen met MRI gescand worden afhankelijk van een momenteel lopende pilot in het lab. Daarnaast worden de dieren dagelijks door de diervoorzorging gecontroleerd. Dieren zullen worden behandeld met de te testen therapie of worden opgeofferd zodra ze het eerste meetbare ongerief van de kankers krijgen (toename fluorescent signaal op IVIS, gewichtsverlies, bleekheid ('witte oren'), kortademigheid). Bij dieren die therapie krijgen zal extra worden opgelet of ze nadelige effecten van de middelen ondervinden zoals gewichtsverlies. Om dit laatste type ongerief zoveel mogelijk te voorkomen zullen de dosering van de middelen aanpassen op de waarden genoemd in de literatuur, waar mogelijk en dieren extra te monitoren tijdens de behandeling. Tenslotte zullen dieren worden opgeofferd als de therapie niet aanslaat (bij geen respons binnen 2 weken na start therapie).

#### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

In de minderheid van de gevallen zullen dieren dusdanig ernstig ziek worden dat de op basis van humane eindpunten opgeofferd dienen te worden. Dit zal zijn als de dieren moribund zijn, lethargisch zijn, >20% van hun gewicht verloren zijn of ernstige (vecht)wonden hebben.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

We streven ernaar dat zo min mogelijk dieren dit criterium zal halen, onze ervaring met deze modellen leert dat dit percentage in de praktijk onder de 5 % ligt.

#### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Het cumulatief ongerief schatten we in als matig.

### Einde experiment

#### L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Dieren zullen uitgebreid worden onderzocht op macroscopische pathologie en tumoren zullen worden opgestuurd voor histologie. Verder zullen aangedane organen worden opgeslagen voor verder onderzoek (eiwit, RNA, DNA, en aneuploidie analyses)

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan  
9713 AV GRONINGEN



**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  
AVD105002016466  
**Bijlagen**  
1

Datum 17 mei 2016  
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Op 16 maart 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Ontwikkeling van aneuploidie-targeting therapie" met aanvraagnummer AVD105002016466. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 9 mei 2016 heeft u uw aanvraag aangevuld. Op ons verzoek heeft u de NTS en het projectvoorstel consistent gemaakt in de doelcategorie van het onderzoek, is de ongeriefsclassificatie verhelderd en is uw strategie indien de parallel ingediende aanvraag (AVD105002016465) niet vergund zou worden verhelderd.

### **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 betreffende afstemming van de go/no go momenten met de IvD wordt gesteld om onnodige inzet van dieren in proeven te voorkomen.

De algemene voorwaarde betreffende artikel 10, lid 1 sub a van de wet wordt gesteld bij vergunningen met een langere looptijd. Dit om te voldoen aan datgene wat volgt uit dit artikel. U kunt met uw project "Ontwikkeling van aneuploidie-targeting therapie" starten. De vergunning wordt afgegeven van 17 mei 2016 tot en met 31 maart 2021.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

**Procedure**

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-RUG gevoegd. Dit advies is opgesteld op 15 maart 2016. 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. Wel stellen wij enkele algemene voorwaarden. 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:



M. G. de Peuter  
Algemeen Secretaris

**Bijlagen:**

- Vergunning
- Hiervan deel uitmakend:
  - DEC-advies
  - Weergave wet- en regelgeving



## Projectvergunning

### gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Rijksuniversiteit Groningen

Adres: A. Deusinglaan

Postcode en plaats: 9713AV GRONINGEN

Deelnemersnummer: 10500

deze projectvergunning voor het tijdvak 17 mei 2016 tot en met 31 maart 2021, voor het project "Ontwikkeling van aneuploidie-targeting therapie" met aanvraagnummer AVD105002016466, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-RUG. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Universitair docent. Voor de uitvoering van het project is Universitair docent verantwoordelijk.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 16 maart 2016
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 9 mei 2016;
  - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 9 mei 2016;
  - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 15 maart 2016, ontvangen op 16 maart 2016.
  - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 9 mei 2016

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Interventiemodellen voor aneuploïde kanker	Muizen ( <i>Mus musculus</i> ) / Tg muizen	700	Matig	

### Voorwaarden

#### Op grond van artikel 10a1 lid 2 Wod zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

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

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 overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

# 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 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.