

	Inventaris Wob-verzoek W17-12								
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	documenten NTS20172506	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel			x					
3	Niet-technische samenvatting	x							
4	Bijlage beschrijving dierproeven 1			x					
5	DEC-advies				x		x	x	
6	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
7	Advies CCD		x						x
8	Beschikking en vergunning				x		x	x	



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, 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>	☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in 50100 ☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	TNO
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	27376655
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	
		Postbus	96800
		Postcode en plaats	2509 JE DEN HAAG
		IBAN	NL39INGB0657819271
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	TNO
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] x Dhr. ☐ Mw.
		Functie	Onderzoeker
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] ☐ Dhr. ☐ Mw.
		Functie	Onderzoeker
		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 | ☐ Dhr. ☐ Mw. |
| Functie | |
| Afdeling | |
| Telefoonnummer | |
| E-mailadres | |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- ☒ Ja > Stuur dan het ingevulde formulier *Melding Machtiging* mee met deze aanvraag
- ☐ Nee

2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- ☒ Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3
- ☐ Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2
- ☐ 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?
- ☐ Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier
- ☐ Nee > Ga verder met vraag 3
- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- ☐ Nee > Ga verder met vraag 3
- ☐ 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 | 01 - 01 - 2018 |
| Einddatum | 31 - 12 - 2023 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Investigating potential cardiovascular safety issues of drugs and other substances
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Het testen van medicijnen en andere stoffen op hart- en vaatziekten gerelateerde bijwerkingen
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|------------------------|
| Naam DEC | DEC-TNO |
| Postadres | 96800 2509 JE DEN HAAG |
| E-mailadres | |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? ☒ Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1035 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
 s.v.p. uw factuur o.v.v. 'vooruitbetaling' en het bestelnummer 3100165835/1 indienen via e-mail bij [redacted] adres:
 TNO T.a.v. Accounts Payable
 Postbus 96829
 2509 JE DEN HAAG

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 [redacted]

Functie [redacted]

Plaats Den Haag

Datum 05 - 07 - 2017

Handtekening [redacted]



Form Project proposal

- This form should be used to write the project proposal for animal procedures.
- The appendix 'description animal procedures' is an appendix to this form. For each type of animal procedure, a separate appendix 'description animal procedures' should be enclosed.
- For more information on the project proposal, see our website (www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment.
- 1.3 Provide the title of the project.

2 Categories

- 2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project.
- ☐ Basic research
- ☒ Translational or applied research
- ☐ Regulatory use or routine production
- ☐ Research into environmental protection in the interest of human or
- ☐ Research aimed at preserving the species subjected to procedures
- ☐ Higher education or training
- ☐ Forensic enquiries
- ☐ Maintenance of colonies of genetically altered animals not used in other animal procedures

3 General description of the project

3.1 Background

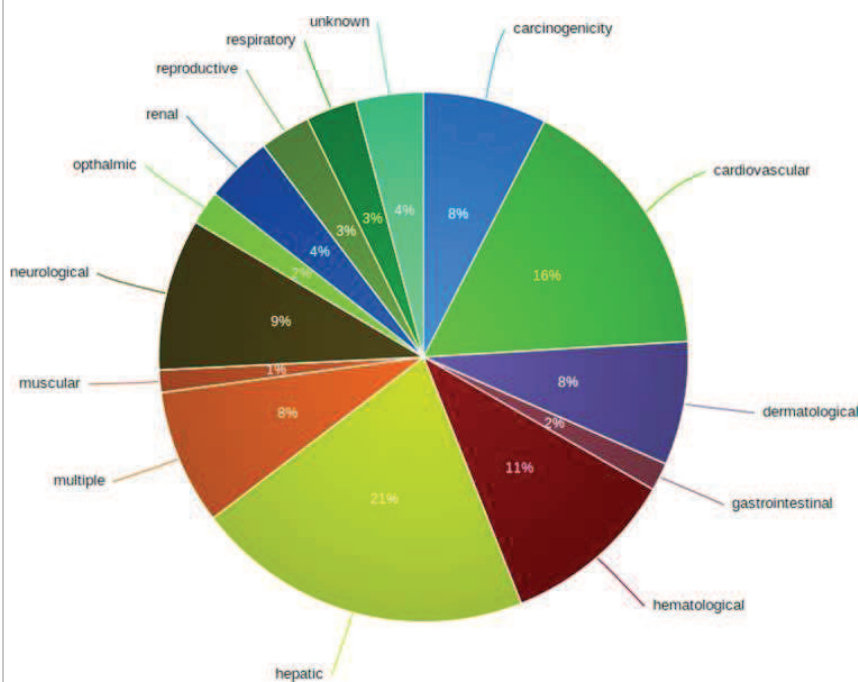
Describe the project (motivation, background and context) with respect to the categories selected in 2.

- For legally required animal procedures, indicate which statutory or regulatory requirements apply (with respect to the intended use and market authorisation).
- For routine production, describe what will be produced and for which uses.
- For higher education or training, explain why this project is part of the educational program and describe the learning targets.

Cardiovascular safety

Efficacy and safety are two decisive factors that affect the viability of new drugs. Over the decades, drug regulatory agencies, pharmaceutical companies and various clinical studies have reported the events of drug withdrawals due to severe adverse side-effects. In a recent publication (Siramshetty et al, Nucleic Acids Res 2016) a database was presented with an extensive list of withdrawn and discontinued drugs in the USA and Europe, including the reason for withdrawal, eq. the type of adverse effect. 16% of the withdrawn drugs were associated with cardiovascular safety issues.

Figure 1: Overview of safety/toxicity issues associated with drug withdrawal (see also database <http://cheminfo.charite.de/withdrawn>)



Also other substances (chemicals) could be associated with cardiovascular safety issues in humans, when (chronic) exposure of these substances to humans occur. As an example we mention the persistent perfluorinated hydrocarbons (PFOS and PFOA), which show a positive association in cross-sectional epidemiological studies with increased plasma cholesterol levels (a risk factor for cardiovascular disease; see also below).

These cardiovascular safety issues were not detected preclinically in the standard regulatory safety/toxicity studies. This is because standard regulatory safety/toxicity studies are primarily performed in young and healthy mice and rats. Since these animals do not have a predisposition for cardiovascular disorders, potential adverse (side) effects of new drugs and other substances (chemicals) on cardiovascular risk factors are not likely to be picked up in these healthy animals.

Cardiovascular disease and risk factors

Cardiovascular disease (CVD) is the leading cause of death worldwide. Its major underlying pathology is atherosclerosis, a complex, multi-factorial disease that is driven by dyslipidaemia and chronic inflammation. Obesity is strongly related to major cardiovascular risk factors such as raised blood pressure, glucose intolerance/insulin resistance, type 2 diabetes and dyslipidaemia. These metabolic abnormalities tend to cluster together and this combination is called Metabolic Syndrome. The liver plays a central role in the control of lipid metabolism and contributes to systemic inflammatory changes, insulin resistance and hyperlipidaemia determining progression of CVD. Recently, accumulating evidence suggests that obesity induced fattening of the liver (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD or

nonalcoholic steatohepatitis (NASH) in case the liver is also inflamed) may pose a cardiovascular risk above and beyond that is conferred by traditional cardiovascular risk factors. CVD is likely to continue to grow due to increased obesity rates and our aging society.

In the past 30 years, TNO has developed translational animal models that allow detailed analysis of different cardiovascular risk factors. In contrast to wild type mice, these animal models develop subclinical phenotypes of cardiovascular risk factors, in which (adverse) effects can be very well studied. In recent years, we have found that our translational animal models and technology are particularly suited to provide a meaningful contribution to research into the potential cardiovascular safety aspects of new drugs (which are already on the market or still in a preclinical or clinical study phase) and other substances with potential cardiovascular safety aspects.

Identifying the potential cardiovascular/metabolic safety issues allow our partners in the chemical & pharmaceutical industry to develop ways to prevent or mitigate these safety issues.

Through our portfolio, we support both the chemical & pharmaceutical industry as well as academia and medical centers. We strive to continuously incorporate new insights and technologies in our portfolio to offer the best possible preclinical research tools to perform cardiovascular safety studies in relevant translational animal models.

3.2 Purpose

Describe the project's main objective and explain why this objective is achievable.

- If the project is focussed on one or more research objectives, which research questions should be addressed during this project?
- If the main objective is not a research objective, which specific need(s) does this project respond to?

Our aim is to provide a meaningful contribution to research into the potential cardiovascular/metabolic safety aspects of (new) drugs and other substances.

Based on preclinical, clinical or post-clinical adverse drug reactions or epidemiological studies (in case of (chronic) exposure of humans to chemicals) in association with cardiovascular safety, we (together with, or on behalf of our pharmaceutical or chemical industry partners) will investigate drugs with cardiovascular/metabolic safety aspects. The specific research question of a study will generally focus on the potential adverse effect of the drugs or other substances on one or more cardiovascular risk factors and/or the elucidation of the mechanism involved. We also further aid our pharmaceutical and chemical industry partners by screening other candidate drugs in a pre-clinical, clinical or post-clinical phase or other substances in order to select drugs or other substances that do not show these cardiovascular/metabolic safety aspects.

Approximately 70% of our studies will be applied research performed to investigate the adverse effects of drugs or substances on one or more cardiovascular risk factors. In addition, about 30% of our studies is translational research performed to investigate the underlying working mechanism of the adverse effects.

If for example in a study a new drug shows adverse effects on the cardiovascular risk factor hyperlipidaemia, the next study could be a further elucidation of the mechanisms involved. Or the next study could also be investigating potential adverse effects other drugs (in the same class) or investigating whether the drug also has adverse effects on atherosclerosis development.

This project has a high feasibility:

Within the strategy of TNO, Healthy Living is one of the five focus areas. Within the focus area of Healthy Living research is being done that varies from the development of healthy and safe food, children growing up healthily or working healthily to predictive health technologies. A substantial portion of the research is dedicated to education, prevention and treatment, either commissioned by the government or in collaboration with academia or industry. The research described in this project is embedded within the theme of predictive health technologies that aims to have a better understanding of health and diseases and better predict (adverse) effects of drugs and other substances.

Researchers within the group are already more than 20 years working in the field of cardiovascular and metabolic diseases (both efficacy studies, fundamental research as safety studies), and have an extensive track record of more than 150 peer-reviewed international publications. For the research described in this project, focusing on cardiovascular/metabolic safety aspects of drugs and other substances, we have performed numerous studies. For example, in a translational mouse model for hyperlipidemia and atherosclerosis, we have performed a number of studies in which the adverse effects of new drugs on lipid metabolism were investigated: HIV-inhibitors (against AIDS), JAK inhibitors (in development for rheumatoid arthritis), bexarotene (against metastatic differentiated thyroid carcinoma) and tyrosine kinase inhibitors (chronic myeloid leukemia), and torcetrapib (a CETP inhibitor with adverse cardiovascular side effects). We have also performed studies on the mechanism of action of the widely used and persistent perfluorinated hydrocarbons (PFOS and PFOA), which show a positive association in cross-sectional epidemiological studies with increased plasma cholesterol levels.

A large network has been built within both the academic world and the pharmaceutical industry, as well as biotech companies, academic medical centers, patient organizations and governments. Within this network we have conducted more than 150 cooperation projects over the past 15 years (both bilaterally and in larger consortia). Our previous achievements show that with the experiments described in this project we contribute to our main focus area Healthy Living.

3.3 Relevance

What is the scientific and/or social relevance of the objectives described above?

Over the decades, drug regulatory agencies, pharmaceutical companies and various clinical studies have reported the events of drug withdrawals due to severe adverse side-effects. 16% of the withdrawn drugs in the USA and Europe were associated with cardiovascular safety issues.

CVD represents a major economic burden on health care systems in terms of direct (eg, hospitalizations, rehabilitation services, physician visits, drugs) and indirect costs associated with mortality and morbidity (eg, losses of productivity due to premature mortality and short- or long-term disability). The effects of CVD are not limited to health, but can seep into social aspects of life as well (physical limitations, social limitations, decreased life expectancy).

Investigating potential cardiovascular safety issues of drugs (designed for treatment of other diseases) or other substances will be important for better predicting potential adverse cardiovascular effects which will allow our partners of the pharmaceutical and chemical industry to develop ways to prevent or mitigate these safety issues.

3.4 Research strategy

3.4.1 Provide an overview of the overall design of the project (strategy).

All studies that will be conducted in this project will be cardiovascular safety studies to evaluate the potential adverse effect of the new drugs or other substances on one or more cardiovascular risk factors and/or the elucidation of the mechanism involved.

Cardiovascular safety issues of drugs are mainly discovered in a clinical or post-clinical phase. Associations between cardiovascular adverse effects and other substances humans can be (chronically) exposed to are mainly discovered in epidemiological studies. Also if preclinical *in vitro*, *in vivo* or *in silico* (Target Safety Assessment) studies give potential cardiovascular safety issues, or if there are known properties of a (certain class of) compound(s) which could cause potential cardiovascular issues, this will be a reason to evaluate this further in relevant models. We (together with, or on behalf of our pharmaceutical or chemical industry partners) will investigate these drugs or other substances on their potential cardiovascular safety aspects and/or underlying mechanism(s). We will first perform a literature search what already is known about the specific drug/substance and what is known about the potential cardiovascular safety aspects of the drug. The partner will also be asked what is already known of the drug/substance. Then, based on this knowledge and the research question, we will decide and advise our partner whether the research question can be answered using *in vitro* (eg primary human cells), *ex vivo* (existing patient materials or materials available from previous animal studies) or *in silico* models (target safety assessment) or whether our translational *in vivo* models are necessary (or a combination of these models are necessary).

3 R developments in metabolic disorder research: possibilities and limitations

TNO has set up a research program to refine, reduce and replace animal testing. In this program, TNO collaborates with others to accelerate the process of developing alternatives. TNO is constantly looking for new insights and technologies that can reduce animal experiments. Our department has an extensive track record using primary human cells (a.o. primary human hepatocytes or HUVECs) for research questions in the field of cardiovascular and metabolic diseases. TNO also makes use of *in silico* models (target safety assessment) to predict potential safety liabilities. However, the development of cardiovascular disease and its underlying atherosclerosis is a complicated multifactorial process in which multiple organs interact and especially if the mechanism of potential adverse (side) effects of drugs on metabolic disorders is not clear, at present time it will not be possible to use only *in vitro* and *in silico* models to investigate these potential cardiovascular issues. Therefore, we also have a number of highly translational subclinical animal models in which we investigate potential cardiovascular issues of drugs and other substances.

For each individual *in vivo* study, the partner(s) will be advised on the optimal study design which includes aspects such as choosing the most suitable model (see also table 1), the experimental design, the route of administration, treatment frequency, power analysis, the concentration of choice, the primary and secondary read-out parameters, etc. If insufficient information is available, it will be decided to first perform a pilot experiment to obtain the desired information. For instance, a dose-finding pilot study could first be performed to find the dose in mice which correlates with a clinically relevant dose in humans (metabolic rate in mice is generally higher than in humans, so for equal plasma concentrations, mostly a higher dose is needed).

One of the most important selection points in our studies, is the choice of animal model to be used (see also table 1). This choice depends very much on which cardiovascular safety aspect(s) of the new drug is to be evaluated. Since each model has different cardiovascular risk factor characteristics, the combination of certain characteristics may fit better, dependent on the research question and any knowledge.

Study specific designs can vary and depend on the type of potential cardiovascular risk factor(s) of the new drug or substance are to be investigated and length of the study (for example, adverse effects on dyslipidaemia can be investigated fairly quickly (4 weeks, but atherosclerosis development in this mouse model takes much longer (16 weeks) to provide a window to investigate the potential adverse effects).

3.4.2 Provide a basic outline of the different components of the project and the type(s) of animal procedures that will be performed.

In order to induce the cardiovascular risk factors of interest a suitable mouse model from our portfolio is chosen (see table 1). The choice of the mouse model will depend on the research question. In general, the APOE*3Leiden(CETP) mouse is the preferred model as compared to the APOE -/- and LDLR-/- mouse, because, since in our view the APOE*3Leiden(CETP) mouse is the best translational model to evaluate potential cardiovascular issues. The APOE*3Leiden mouse contains the human APOE*3Leiden transgene which results a human-like (V)LDL clearance. The APOE*3Leiden.CETP mouse has the same characteristics as the APOE*3Leiden mouse in terms of (V)LDL metabolism, but also expresses human CETP, which results in a human-like HDL metabolism. So, if there are potential adverse effects on HDL metabolism (can be in addition to potential adverse effects on (V)LDL metabolism), the APOE*3Leiden.CETP mouse is the preferred model when compared to the APOE*3Leiden mouse. The APOE*3Leiden mouse would be preferred over the APOE*3Leiden.CETP mice if we want to exclude potential effects on CETP mediated HDL-metabolism or if the focus of the study is on adverse effects on chronic inflammation.

We would like to use the APOE-/- mouse or the LDLR -/- mouse model if, for example, we want an independent confirmation of data in the literature or if we want to exclude the involvement of ApoE or LDLR mediated (V)LDL clearance in potential cardiovascular issues.

The mice will be fed a western type diet to mimic the consumption in the Western World, thereby inducing the cardiovascular risk factors. The new drug or substance to be tested on its cardiovascular safety aspects will be administered via admix food, admix drinking water, gavages or injections or osmotic minipumps. During the study parameters will be measured:
Body weight and food intake will be monitored regularly during the study and blood samples will be taken regularly for measurement of lipids, inflammation markers etc. At the end of the study animals are euthanized and blood and tissues are collected for further analyses. More specific parameters can be measured during the study and are mentioned in the appendix. Diets and parameters to be measured are described in more detail in the appendix.

Table 1. Mouse models and cardiovascular risk factors to be studied

Mouse model	Cardiovascular risk factor	Notes
ApoE*3Leiden	hyperlipidemia	Mice carrying a human APOE*3Leiden transgene that leads to a defective clearance of triglyceride and cholesterol-rich lipoproteins (VLDL and LDL). While normal wild-type mice have a very rapid clearance of VLDL and LDL, ApoE*3Leiden (E3L) mice have an impaired clearance and are thereby mimicking the slow clearance observed in humans. APOE*3-Leiden transgenic mice are highly responsive to fat, sugar and cholesterol feeding with respect to the effects on plasma cholesterol and triglyceride levels. APOE*3Leiden animals have proven very suitable for cardiovascular safety studies. Males and females can be used to evaluate adverse lipid effects, however they respond very different on dietary cholesterol induced hyperlipidemia. Therefore there is a preference per study to use female or male mice only.
	atherosclerosis	Only females are suitable to evaluate adverse effects on atherosclerosis development. Male mice do not/hardly develop atherosclerosis.
	chronic inflammation	Only females on a high cholesterol diet are suitable to evaluate adverse effects on chronic inflammation (plasma and in vessel wall).
APOE*3Leiden.CETP	hyperlipidemia, atherosclerosis	APOE*3Leiden.CETP: In contrast to humans, wild type mice express no CETP (which transfers cholesterol from HDL to (V)LDL). The double transgenic ApoE3*Leiden.CETP mouse brings CETP to expression and therefore this model is translational to the human situation regarding HDL metabolism, so suitable to test potential adverse effects on HDL-cholesterol. Furthermore, this mouse has the same characteristics as the APOE*3Leiden mouse regarding its (V)LDL metabolism.
LDLR-/-	hyperlipidemia, atherosclerosis	Both males and females can be used to evaluate adverse effects on lipids and atherosclerosis. The mice lack a specific receptor (Ldlr) and reflect a particular group of patients that have the same genetic impairment (patients with defective or absent Ldlr). This model is not to be used when LDLR could be involved in (side) adverse effect of new drug.
ApoE-/-	hyperlipidemia, atherosclerosis	Both males and females can be used to evaluate adverse effects on lipid and atherosclerosis. This is a model with higher lipid levels and more atherosclerosis as compared to all models above. This model is not to be used when ApoE could be involved in the adverse effect under investigation.

3.4.3 Describe the coherence between the different components and the different steps of the project. If applicable, describe the milestones and selection points.

Different cardiovascular risk factors can be induced in translational animal models: obesity, insulin resistance, Type 2 Diabetes, hyperlipidemia, atherosclerosis, NAFLD and NASH. Our department currently focuses on potential adverse effects on hyperlipidemia, inflammation and atherosclerosis, based on our expertise in this area and cardiovascular safety issues of drugs and other substances tested by us thus far. The coherence between the studies is that in all studies potential adverse effects on cardiovascular risk factors and/or underlying mechanism are being studied. Identifying the potential cardiovascular/metabolic safety issues allow our partners in the chemical & pharmaceutical industry to develop ways to prevent or mitigate these safety issues, in order to reduce CVD.

3.4.4 List the different types of animal procedures. Use a different appendix 'description animal procedures' for each type of animal procedure.

Serial number	Type of animal procedure
1	Cardiovascular safety study
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	



Appendix

Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information, see our website (www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

1

General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	50100	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	The Netherlands Organisation for Applied Scientific Research (TNO)	
1.3	List the serial number and type of animal procedure. <i>Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.</i>	Serial number 3.4.4.1	Type of animal procedure Investigating potential cardiovascular safety issues of drugs and other substances

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

Describe the general design of the animal procedures in relation to the primary outcome parameters. Justify the choice of these parameters.

Different mouse models and conditions can be used. The general design of cardiovascular safety studies is treatment of (transgenic) mice with a western type diet (a cholesterol and fat rich diet) to mimic the consumption in the Western World, thereby inducing the cardiovascular risk factors and giving the necessary window to examine potential adverse effects on the risk factors. Fructose in drinking water could also be added which will result in a more atherogenic lipoprotein profile. The detailed study design being used depends on which cardiovascular safety issues are being investigated: hyperlipidemia, chronic inflammation, atherosclerosis.

The study duration and subsequently the length of the study ranges from approx. 8-24 weeks and will depend on the diet being used, the sensitivity of a mouse strain towards this diet, induction time of cardiovascular risk factor and the new drug under investigation (as an example: female ApoE*3Leiden.CETP mice fed cholesterol containing western type diet develop hyperlipidemia very quickly (3-4 weeks), but it takes a longer time to develop atherosclerosis (16-20 weeks).

Importantly, the specific combination of animal model + diet (e.g. the percentage of cholesterol) determines which cardiovascular safety issues can be investigated (see also table 1 in the general part of the project proposal).

A study can include the following groups:

1. control group (mice are fed a western type diet, no intervention).
2. reference control group (mice are fed a western type diet; intervention is with a drug or substance known to have adverse cardiovascular effects (reference control)).
3. Treatment group (mice are fed a western type diet; and new drugs or substances with potential cardiovascular safety issues are applied)

After a run-in period on the western type diet, the mice are matched into groups based on body weight, age plasma lipids or inflammation markers (which parameters to be used is based on research question). Hereafter treatment with the drugs or substances with potential cardiovascular safety issues starts. The study varies in duration based on which cardiovascular safety issues are under investigation

Additional groups can be added as well: additional groups for PK/PD analysis could be added if an additional research question is also to obtain more PK/PD information on the administered compounds. Furthermore, it can also be decided to first perform a pilot experiment if crucial information is lacking (for example, first a dose-finding pilot study could be performed to find the optimal dose in mice which correlate to clinical dose in humans (= clinically relevant plasma levels of compound)).

Besides directly testing the potential adverse effects, also more basic research studies are performed aiming at understanding the underlying mechanisms of the potential adverse effect. For all studies, it is very important that we use translational models that reflect the cardiovascular risk factors in humans as much as possible. These studies provide necessary information for the development of drugs that do not have CVD (cardiovascular disease) side effects

The primary outcome parameters will depend on the specific research question:

- For investigating potential cardiovascular adverse effects on **hyperlipidemia**, the primary outcome parameters will be plasma lipids.
- For investigating potential cardiovascular adverse effects on **chronic inflammation**, the primary outcome parameters will be plasma inflammation markers and/or inflammation markers in the vessel wall).
- For investigating potential cardiovascular adverse effects on **atherosclerosis**, the primary outcome parameters will be histological analysis of plaque size and severity in aortic root area or aorta.

In general, body weight and food intake will be monitored and during the study blood/plasma measurements will be performed to analyse plasma parameters. At the end of each study, tissues will be collected for analysis of atherosclerosis.

Maximum volume and frequency injections/oral gavages/blood samples to be taken are according to what is considered good practice (Diehl et al., J Appl Toxicol. 2001 Jan-Feb; 21(1):15-23).

Describe the proposed animal procedures, including the nature, frequency and duration of the treatment. Provide justifications for the selected approach.

As mentioned above, the precise study design depends on which cardiovascular safety issues are to be studied.

During every study body weight and food intake are monitored regularly, different blood samples will be taken during the study and at the end mice will be euthanized and tissues will be collected. Depending on the research questions, extra procedures for measurement of additional parameters could be added to the study (see below for details).

There are different possibilities for administration routes of new drugs or substances:

- Oral administration via diet admix or via drinking water
-

- Oral administration (p.o.) by gavage
- Intraperitoneal injection (i.p.)
- Subcutaneous injection (s.c.)
- Intravenous injection (i.v.)
- Intramuscular injection (i.m.)
- Via osmotic mini-pump (s.c.): Using appropriate anesthesia and analgesia, osmotic minipumps suitable for mice will be placed subcutaneously. During an experiment, it might be necessary to replace the minipump.

During the study at several time-points blood samples will be taken for plasma measurements. Blood samples can be taken:

- via tail vein after 4-5 hours fasting
- via tail vein after overnight fasting (in particular cases it may be necessary to collect blood after prolonged fasting, e.g. when ketone bodies or free fatty acids or other markers of fasting are measured or if we need blood samples that do not contain chylomicrons or any food derived markers).
- via tail vein non-fasted (in particular cases it may be necessary to collect non-fasted blood, e.g. after postprandial challenge tests after meal).

The frequency and volume of blood taken will be within good practice limits as described in Diehl et al. (2001)

At the end of the experiment mice will be euthanized, and plasma and different tissues will be collected.

During the study the following procedures could be added:

Deuterated water administration (D_2O)

To be able to trace newly formed proteins (lipids for instance) within a given period, D_2O can be given for a short period (number of days) or long (several weeks) period in our studies. Labeling can take place at various times of the study and depends on the specific question. D_2O will be built into all the newly synthesized proteins and in this way newly formed protein can be traced. On the first day, the mice receive a single i.p. injection with body warm D_2O 100% / 0.9% NaCl to label the body water around 2-5% of the mouse. Then the D_2O body water levels will be maintained by adding D_2O in the drinking water (containing 4-8% D_2O) until the end of the study.

Feces collection (for measurements of fatty acids, sterols, for example, to be able to evaluate the effect on lipid excretion)

- By collecting feces after several days from the cage bed (on group level) or after lifting mice (individual feces collection)
- By taking rectal swabs

VLDL production (measurement of VLDL production; non-recovery)

Mice are fasted for 4 hours, and then anesthetized with appropriate injection anesthesia. Under anesthesia Tran 35S-label is injected intravenously in the tail vein for measurement of the apoB novo synthesis and 30 minutes thereafter the mice are injected with Triton WR 1339 (iv, tail) for complete blocking of VLDL clearance. 0, 15, 30, 60 and 90 minutes after Triton injection, a blood sample (40 μ l) is taken via the tail for measurement of plasma triglycerides (VLDL production measurement). After 90 minutes, the mice are euthanized via cervical dislocation and the remaining blood is collected via cardiac puncture for VLDL isolation and determination of the ApoB novo synthesis and lipid composition VLDL. Different tissues can be isolated as well.

VLDL clearance (measurement of VLDL clearance; non-recovery)

For this purpose, mice will be fasted for 4 hours after which mice will receive VLDL-like particles labeled with 3 H-triolein and 14C-cholesteryl oleate via an injection into the tail vein. After 2, 5, 10 and 15 minutes, a blood sample is taken via the tail (40 μ l per time point). The mice are euthanized by cervical dislocation and blood is collected at the end of the experiment by means of a heart puncture and different tissues are isolated as well. 3H and 14C activity is measured in tissues and plasma samples.

Challenge measurement (to measure potential adverse effects of new drugs or other substances after application of acute metabolic stressor)

- Administration of dietary challenge (bolus of dietary fat, lipids, bile acids, fatty acids, cholesterol) to assess the metabolic response after set time points.
- Challenges with heparin administration (iv or ip injection) for determination of lipoprotein lipase (LPL) activity.

Blood samples can be taken before, during and after the challenge (one or more blood samples, depending on the specific research question).

Blood pressure measurement (to measure potential adverse effects of new drugs or other substances on blood pressure).

In principle all procedures, except VLDL clearance and production (both non recovery procedures), could be performed in the same mouse. The study will be designed in a way that the mice will be given time between these procedures (good practice).

Describe which statistical methods have been used and which other considerations have been taken into account to minimise the number of animals.

To estimate the number of animals to be used in an experiment, we use the adverse effect size (if known, e.g., from data in the literature, clinical studies and post clinical observations, from our own historical data or years of experience with similar type of experiments or if unknown from pilot studies) to estimate the sample size needed to achieve a certain power (usually between 0.8-0.9) with appropriate statistical tests like the t-test with a $p < 0.05$.

As an indication: usually $n=8$ mice will be used to investigate the adverse effects on plasma lipids and plasma inflammation markers, and $n=15$ mice per group for to investigate the adverse effects on atherosclerosis and/or inflammation in the vessel wall.

In addition, there could be low-responders / outliers. For ApoE*3Leiden and ApoE*3Leiden.CETP mice it is well known that a certain percentage of the mice does not respond to a cholesterol containing diet with respect to the development of hyperlipidemia. For lipid and atherosclerosis studies, these mice will be excluded in the beginning of the study to reduce the variation and thus the number of animals required per group. If possible different study groups will be combined, so that different treatment groups can share the same control groups.

B. The animals

Specify the species, origin, estimated numbers, and life stages. Provide justifications for these choices.

Mice, ApoE*3Leiden, ApoE*3Leiden.CETP mice from our own breeding facility, 8-22 weeks old will be used. In addition, ApoE-/-, LDLR-/-, 8-22 weeks old can be used.

ApoE*3Leiden: Mice carrying a human APOE*3Leiden transgene that leads to a defective clearance of Triglyceride and cholesterol-rich lipoproteins (VLDL and LDL). While normal wild-type mice have a very rapid clearance of VLDL and LDL, ApoE*3Leiden (E3L) mice have an impaired clearance and are thereby mimicking the slow clearance observed in humans. APOE*3-Leiden transgenic mice are highly responsive to fat, sugar and cholesterol feeding with respect to the effects on plasma cholesterol and triglyceride levels. APOE*3Leiden animals have proven to be responsive to the most of the drugs that are also used in the clinic, and also very suitable for cardiovascular safety studies. Males and females can be used to evaluate adverse lipid effects, however they respond very different on dietary cholesterol induced hyperlipidemia. Therefore there is a preference per study to use female or male mice only.

Only females are suitable to evaluate adverse effects on atherosclerosis development. Male mice do

not/hardly develop atherosclerosis.

*APOE*3Leiden.CETP*: In contrast to humans, wild type mice express no CETP (which transfers cholesterol from HDL to (V)LDL). The double transgenic ApoE3*Leiden.CETP mouse brings CETP to expression and therefore this model is translational to the human situation regarding HDL metabolism, so suitable to test potential adverse effects on HDL-cholesterol. Furthermore, this mouse has the same characteristics as the APOE*3Leiden mouse regarding its (V)LDL metabolism.

The two mice models above are, in our view the most translational mouse models to investigate potential cardiovascular safety issues of compounds, however, based on the research question and/or what is known from literature, the commercially available LDLR^{-/-} and ApoE^{-/-} mice could also be used to investigate potential cardiovascular safety issues.

LDLR^{-/-}: both males and females can be used to evaluate adverse effects on lipids and atherosclerosis. The mice lack a specific receptor (Ldlr) and reflect a particular group of patients that have the same genetic impairment (patients with defective or absent Ldlr). This model is not to be used when LDLR could be involved in (side) adverse effect of new drug.

ApoE^{-/-}-mice: both males and females can be used to evaluate adverse effects on lipid and atherosclerosis. This is a model with higher lipid levels and more atherosclerosis than the models mentioned above. This model is not to be used when ApoE could be involved in the adverse effect under investigation.

Please note that all mouse models show a subclinical phenotype and do not lead to discomfort. Similarly as in humans, that are often unaware of these disturbances until a very late stage. Also the adverse effects are aimed and expected to show a subclinical phenotype without any discomfort.

The required number of mice for cardiovascular/metabolic safety studies will be estimated to be 1500 for a period of 5 years. This is based on an expected number of cardiovascular safety studies of approx. 5 per year. The average study will consist of 3-6 groups of 8-15 mice each, so on average 50 mice per study. This leads to a required total number of 1250 mice (5 studies x 50 animals / study x 5 years). Expected low/non-responders are 250 mice, so the required number of mice will be estimated to be 1500 mice.

C. Re-use

Will the animals be re-used?

☒ No, continue with question D.

☐ Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.

Are the previous or proposed animal procedures classified as 'severe'?

☒ No

☐ Yes > Provide specific justifications for the re-use of these animals during the procedures.

D. Replacement, reduction, refinement

Describe how the principles of replacement, reduction and refinement were included in the research strategy, e.g. the selection of the animals, the design of the procedures and the number of animals.

Replacement: We continuously seek to replace animal studies with other methods, preferably using human tissue or cells. We work with human cells and in silico models, where possible, since that helps us to make better predictions about potential cardiovascular issues. When we have discovered ways to replace animal testing, we use them ourselves and encourage others to apply these alternative tests. Non-testing techniques, such as computer modelling (target safety assessment), are continually being developed and improved.

Before we consider to perform a novel cardiovascular safety study, we will first analyse appropriate cell lines, existing patient materials or materials available from previous animal studies, which contributes to a reduction of animal numbers. The use of human material and in vitro cultures allows this project to comply with the 3Rs (replacement, reduction and refinement) by keeping the animal numbers to a minimum.

However, animal studies are currently unavoidable to study the complex organ-organ interactions that are intrinsic to all CVD. The development of CVD is a too complicated multifactorial process in which multiple organs and cells interact. Hence, given the complexity of the lipid metabolism, the potential cardiovascular safety issues of drugs can be examined only in intact animal models with intact vascular system and there are currently no established alternative methods to investigate these processes.

Reduction: TNO aims to reduce the number of animals involved in testing. We regularly review our testing methods and implement integrated testing strategies. This helps us to determine whether animal testing is needed or whether the same information can be obtained in other ways. Power analyses are made for each experiment. Whenever possible, we will perform pilot studies with the minimum number of animals possible. Experiments will be done sequentially, where on basis of the results, decisions will be taken for the next steps. If possible different study groups from different studies will be combined, so that they can share the same control groups.

Refinement: We continuously aim to develop, validate and adapt (preferentially non-invasive) test methods in such a way that the test animals are exposed to as little discomfort and stress as possible. All animal handlings will be carried out by authorized and qualified persons. Where possible, all animals will be group housed and environmental enrichment will be provided.

Explain what measures will be taken to minimise 1) animal suffering, pain or fear and 2) adverse effects on the environment.

Appropriate possibilities to reduce pain, fear or suffering will be used. All work will be carried out by a small number of highly trained bio-technicians. Injection fluids will be brought to room or body temperature before injection. In consultation with the attending veterinarian, for surgery appropriate peri-operative care, including appropriate anaesthesia and analgesia, is determined and frequently reviewed and updated towards best practices. The welfare of the animals will be observed daily by different people. If there are clear signs of unexpected severe discomfort, the animals will be euthanized. There are no negative environmental effects; all mice will be housed under strict D1 conditions.

Repetition and duplication

E. Repetition

Explain what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, explain why repetition is required.

N.a.

Accommodation and care

F. Accommodation and care

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures not in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

☒ No

☐ Yes > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices.

G. Location where the animals procedures are performed

Will the animal procedures be carried out in an establishment that is not licenced by the NVWA?

☒ No > Continue with question H.

☐ Yes > Describe this establishment.

Provide justifications for the choice of this establishment. Explain how adequate housing, care and treatment of the animals will be ensured.

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

☐ No > Continue with question I.

X Yes > Will anaesthesia, analgesia or other pain relieving methods be used?

No > Justify why pain relieving methods will not be used.

X Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

For more invasive procedures (placing of osmotic pumps), appropriate anesthesia / analgesia will be used or the procedure will be terminal. In consultation with the attending veterinarian, surgery protocols, including appropriate anaesthesia and analgesia is determined and frequently reviewed and updated towards best practices.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

Describe which other adverse effects on the animals' welfare may be expected?

The induction of the cardiovascular risk factors: hyperlipidemia, chronic inflammation and atherosclerosis do not lead to discomfort. Similarly as in humans, they are often unaware of these disturbances until a very late stage. Based on historical data, we expect the risk of clinical symptoms developing in the animals to be <0.1%

With respect to discomfort caused by drugs and other substances: Although the drugs/substances to be tested are expected to have adverse effects on cardiovascular safety, we aim in our studies that the adverse effects will not cause any discomfort to these animal models. We will perform studies predominantly in earlier phases of disorders and work with efficacy/clinically relevant doses of the drugs or other substances (far below acute toxic levels)

The drugs and chemicals have already been tested in standard regulatory safety/tox preclinical studies and often also clinical safety studies.

Although we do not expect discomfort, we cannot exclude this. Mice will be monitored daily and in case of discomfort, cages will be labelled and the affected mice will be closely monitored to observe whether the health status is improving or deteriorating. Deterioration of the health status with unexpected weight loss, severe wounds and/or signs of general sickness and/or discomfort, will lead to the decision that mice will be euthanized.

Explain why these effects may emerge.

We cannot exclude the possibility that the combination of the compounds in our models leads to unexpected adverse effects. The likelihood (based on historical data of last 5 years) is <0.1%.

Indicate which measures will be adopted to prevent occurrence or minimise severity.

Upon start of treatment mice will be closely monitored and upon signs of animal discomfort, the situation will be discussed with the animal welfare officer or veterinarian and if possible proper measurements will be taken to relieve the animal discomfort or animals will be taken out of experiment and euthanized.

J. Humane endpoints

May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of

humane endpoints to prevent further distress?

☒ No > Continue with question K.

☐ Yes > Describe the criteria that will be used to identify the humane endpoints.

Indicate the likely incidence.

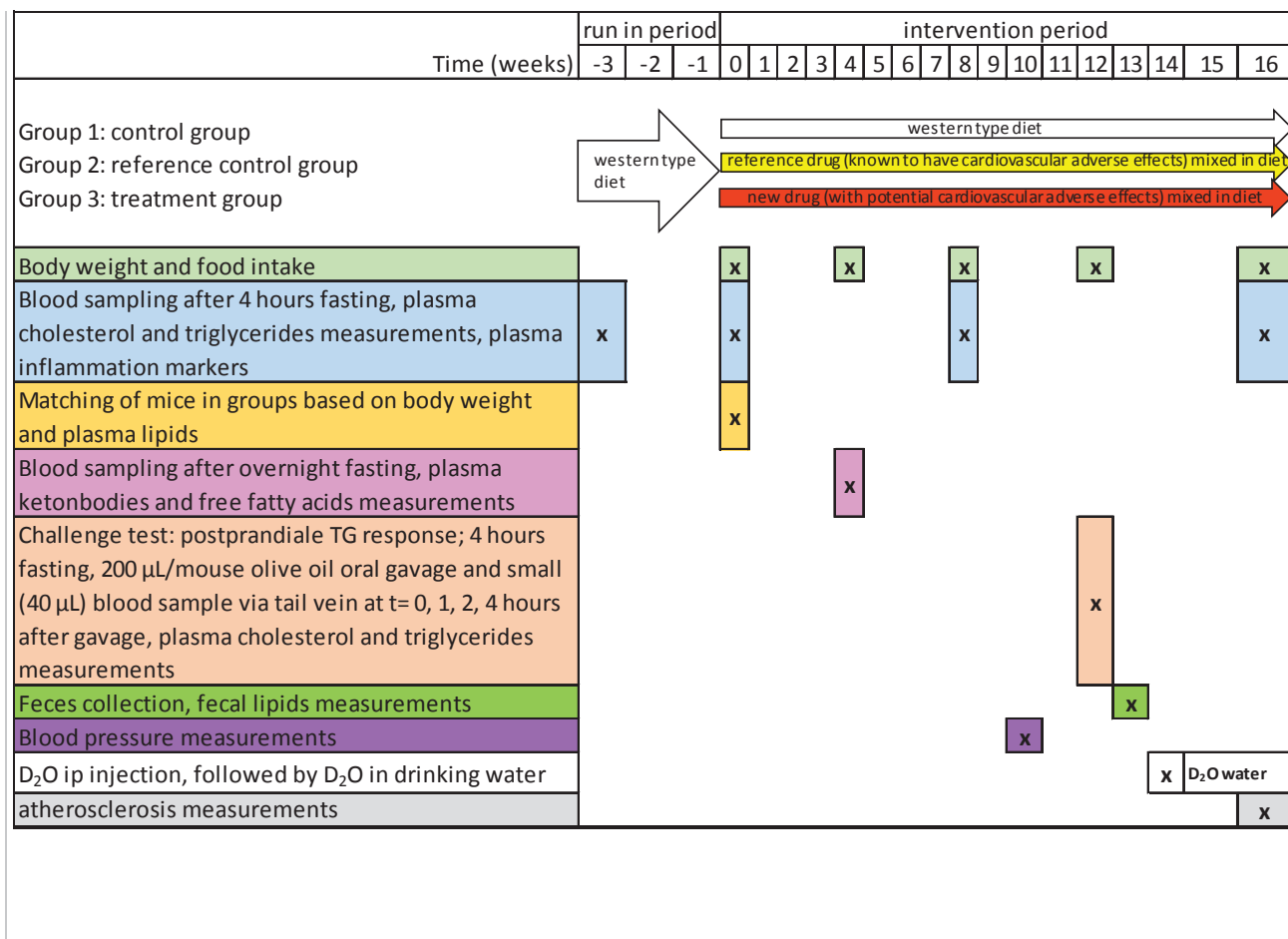
K. Classification of severity of procedures

Provide information on the expected levels of discomfort and indicate to which category the procedures are assigned ('non-recovery', 'mild', 'moderate', 'severe').

In general, the cumulative discomfort for cardiovascular safety studies will be mild or moderate and will not extend beyond moderate. We expect that 95% of the mice will reach a mild cumulative discomfort and 5% of the mice will reach a moderate cumulative discomfort. The different procedures that can be used, will all be within good practice (Diehl et al., J Appl Toxicol. 2001 Jan-Feb; 21(1):15-23) and are assigned to the following categories:

Animal procedure:	Level of discomfort:
Diet interventions	mild
Drinking water interventions	mild
D ₂ O drinking water	mild
Blood sampling, non-fasted or after 4 or 5 hours fasting period or after overnight fasting period	mild
Multiple blood sampling via tail vein within good practice	mild
Single or multiple gavage or injections (iv, ip, im, sc)	mild, incidentally extending to moderate
Feces collection or fecal swabs	mild
VLDL production test	non-recovery
VLDL clearance test	non-recovery
Challenge tests	mild or moderate
Surgery: s.c. osmotic minipumps	moderate
Euthanasia	mild

Depending on the research question, different procedures will be performed in a study. In principle all procedures, except VLDL clearance and production (both non recovery procedures), could be performed in the same mouse. The study will be designed in a way that the mice will be given time to recover between these procedures. Example of an experimental set up:



End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

☐ No

X Yes > Explain why it is necessary to kill the animals during or after the procedures.

Cardiovascular disease manifests within tissues and cannot be analyzed only via plasma. Therefore, the tissues are needed for measurements: heart, aortic root or aorta for atherosclerosis analysis

Is the proposed method of killing listed in Annex IV of Directive 2010/63/EU?

☐ No > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

X Yes

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer :
2. Titel van het project : Investigating potential cardiovascular safety issues of drugs and other substances
3. Titel van de NTS : Het testen van medicijnen en andere stoffen op hart- en vaatziekten gerelateerde bijwerkingen

4. Type aanvraag:

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

5. Contactgegevens DEC

Naam DEC : DEC TNO

Telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]

Emailadres contactpersoon: [REDACTED]

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

- ☒ ontvangen door DEC: 4-5-2017
- ☐ aanvraag compleet:
- ☒ in vergadering besproken: 11-5-2017
- ☐ anderszins behandeld:
- ☐ termijnonderbreking(en) van / tot : van 15-5-2017 (vragen) tot 21-6-2017 (antwoorden)
- ☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
- ☐ aanpassing aanvraag: 21-6-2017
- ☒ advies aan CCD: 30-6-2017

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

8. Eventueel horen van aanvrager : n.v.t.

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

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum vragen: 15-5-2017
- Datum antwoord: 21-6-2017
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.
- Gestelde vragen en antwoorden:

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

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

De APOE-/- muis of de LDLR-/- muis wordt gebruikt als we de betrokkenheid van ApoE of LDLR gemedieerde (V)LDL klaring bij de potentiële cardiovasculaire issues willen uitsluiten of als we bijvoorbeeld een onafhankelijke bevestiging zouden willen van gegevens met deze stammen in de literatuur. Dit is nu verwerkt in de tekst bij 3.4.2.
4. In uw projectaanvraag lezen we dat de dieren geen ongerief ondervinden van de specifieke cardiovasculaire fysiologie bij deze modellen. Tenzij wij dit verkeerd begrepen hebben, kan in de bijlage onder 2.J humane eindpunten, de vraag met "No" beantwoord worden. De informatie die u daar geeft is echter wel relevant, en past goed in I van de bijlage.
Dit is nu aangepast, tekst is verhuist naar bijlage2 i, en bij 2.j is antwoord nu no geworden
5. Om een afweging te maken is het voor ons van belang dat het helder is hoe de dieren ingedeeld zijn in de verschillende ongeriefklassen. In de bijlage onder 2.K, de classificatie van het ongerief, missen we de percentages van dieren die naar verwachting elk van de klassen zullen bereiken, gerelateerd aan handelingen en herhalingen of combinaties daarvan (cumulatief ongerief). 5% moderate en 95% mild, dit is nu in 2.K toegevoegd.
6. In 2.K is sprake van de toepassing van 'good practice'. Kunt u dit preciseren? Hoe bepaalt u bijvoorbeeld hoeveel handelingen u doet aan een dier? We hebben nu toegevoegd dat dit good practice according to Diehl et al is., hoeveelheid en welke handelingen worden uitgevoerd bij een dier is afhankelijk van de onderzoeksvraag, waarbij natuurlijk wel genoeg tijd tussen de verschillende handelingen zit, om het dier te laten herstellen indien van toepassing. In principe zouden alle handelingen in één studie kunnen worden uitgevoerd, behalve de VLDL klaring en productie studie (beiden non-recovery). Deze zinnen zijn nu toegevoegd aan 2K. Tevens is een voorbeeld toegevoegd van een studieopzet waarin voor zover combineerbaar in een studie alle handelingen zijn opgenomen. Dit geeft de DEC een idee van het maximum aan handelingen dat een muis zal ondergaan.

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

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

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Er zijn geen DEC-leden betrokken bij het betreffende project.

C. Beoordeling (inhoud):

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

Belangen en waarden

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

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

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

Proefopzet en haalbaarheid

7. De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn voldoende gewaarborgd en dragen eraan bij dat de doelstellingen behaald kunnen worden, dat aan de 3V-beginselen voldaan kan worden en dat voorkomen kan worden dat mens, dier en milieu negatieve effecten ondervinden als gevolg van de dierproeven. De aanvrager werkt met specialistische onderzoeksgroepen met jaren ervaring, zowel op het gebied van veiligheid van stoffen als van cardiovasculaire aandoeningen. Bij punt 3.2 van de aanvraag wordt duidelijk dat de organisatie al concrete resultaten heeft geboekt op het genoemde terrein. Ook is er grondige kennis aanwezig van de specifieke diermodellen, evenals een netwerk dat actuele kennisuitwisseling bevordert.
8. Het project is goed opgezet. De voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters sluiten logisch en helder aan bij de aangegeven doelstellingen, en de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Muizen krijgen de onderzochte stoffen toegediend op een wijze die telkens past bij de voorliggende onderzoeksvraag, waarna diverse parameters worden gemeten. De strategie is nauwkeurig omschreven en met het antwoord op vraag 3 van de DEC extra verduidelijkt wat betreft de keuze van de diermodellen.

Welzijn dieren

9. Er is geen sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren:
☐ Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)

- ☐ Niet-menselijke primaten (10e)
- ☐ Dieren in/uit het wild (10f)
- ☐ Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I EU richtlijn)
- ☐ Zwerfdieren (10h)
- ☐ Hergebruik (1e lid 2)
- ☐ Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- ☐ Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- ☐ Dodingsmethode niet volgens bijlage IV EU richtlijn (13c lid 3)

10. De dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de EU-richtlijn.
11. Het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. De DEC had hierover wel enkele vragen (4, 5 en 6). De antwoorden daarop hebben duidelijkheid verschaft en zijn opgenomen in de aangepaste bijlage. Ongerief wordt vrijwel uitsluitend verwacht als gevolg van handelingen die met het onderzoek te maken hebben. Het zal zelden gebeuren dat een dier klinische symptomen ervaart (<0,1%). Het cumulatieve ongerief betreft dan ook verschillende handelingen, waarbij rustpauzes in acht worden genomen zoals verduidelijkt in het voorbeeldschema bij 2.K in de bijlage. De DEC is van mening dat de tabel, eveneens onder 2.K, een passende schatting van het ongerief biedt, ook wat betreft de geschatte percentages dieren met (cumulatief) 5% matig en 95% mild ongerief.
12. De integriteit van de dieren wordt aangetast in die zin dat ze als proefdier worden gebruikt en worden gedood. Er is geen andere aantasting van de integriteit van het dier.
13. De humane eindpunten zijn in de bijlage dierproeven goed gedefinieerd en het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt bereikt is goed ingeschat. Naar schatting zal een zeer klein deel van de dieren het eindpunt bereiken, namelijk <0,1%. Dit zal niet gebeuren als gevolg van de experimentele handelingen. Daarom is op advies van de DEC bij 2.J in de bijlage "no" aangekruist en onder 2.I kort beschreven wat criteria zijn voor het uit de proef halen van dieren in incidentele gevallen. Dit is zo gedaan naar aanleiding van vraag 4 van de DEC.

3V's

14. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Dit komt voornamelijk door de complexiteit van cardiovasculaire aandoeningen.
15. Het aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en er is een heldere strategie om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Dit gebeurt door middel van vooronderzoek, pilotstudies, poweranalyses, een stapsgewijze aanpak en het maken van combinaties van studies, zoals toegelicht in 2.D van de bijlage.

16. Het project is in overeenstemming met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project is zodanig opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Dit toont zich in diverse maatregelen vermeld onder 2.D van de bijlage, bijvoorbeeld observatie van de dieren door verschillende personen.
17. Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

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

NTS

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

D. Ethische afweging

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

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

E. Advies

1. Advies aan de CCD

☒ De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

☐ De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden.

☐ De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

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



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

TNO

Postbus 96800

2509 JE DEN HAAG



**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD5010020172506

Bijlagen

2

Datum 5 juli 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 5 juli 2017. Het gaat om uw project "Investigation potential cardiovascular safety issues of drugs and other substances". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD5010020172506. 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. 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

Datum:

5 juli 2017

Aanvraagnummer:

AVD5010020172506

Datum:
5 juli 2017
Aanvraagnummer:
AVD5010020172506

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 50100
Naam instelling of organisatie: TNO
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: 
KvK-nummer: 27376655
Postbus: 96800
Postcode en plaats: 2509 JE DEN HAAG
IBAN: NL39INGB0657819271
Tenaamstelling van het
rekeningnummer: TNO

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: 
Functie: Onderzoeker
Afdeling: 
Telefoonnummer: 
E-mailadres: 

Datum:

5 juli 2017

Aanvraagnummer:

AVD5010020172506

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam:

Functie:

Afdeling:

Telefoonnummer:

E-mailadres:

Onderzoeker

Gegevens gemachtigde

Naam:

Postbus:

Postcode en plaats:

Wilt u een nieuwe machtiging
afgeven?Wat mag de gemachtigde
doen?

96800

2509 JE DEN HAAG

Ja

☒ 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 januari 2018

Geplande einddatum:

31 december 2023

Titel project:

Investigation potential cardiovascular safety issues of drugs and other substances

Titel niet-technische samenvatting:

Het testen van medicijnen en andere stoffen op hart- en vaatziekten gerelateerde bijwerkingen

Naam DEC:

DEC-TNO

Postadres DEC:

96800 2509 JE DEN HAAG

E-mailadres DEC:

**Datum:**

5 juli 2017

Aanvraagnummer:

AVD5010020172506

Betaalgegevens

De leges bedragen:

€ 1035,-

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:



Functie:

Plaats:

Den Haag

Datum:

5 juli 2017



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

TNO

T.a.v. Accounts Payable

Postbus 96829

2509 JE DEN HAAG



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

centralecommissiedierproeven.nl

0900 28 000 28 (10 ct/min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD5010020172506

Bijlagen

2

Datum 5 juli 2017

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 5 juli 2017

Vervaldatum: 4 augustus 2017

Factuurnummer: 172506

Ordernummer: s.v.p. uw factuur o.v.v. 'vooruitbetaling' en het bestelnummer 3100165835/1

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD5010020172506	€ 1035,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL29INGB 070.500.1512 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

TNO

Postbus 96800

2509 JE DEN HAAG



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

centralecommissiedierproeven.nl

0900 28 000 28 (10 ct/min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD5010020172506

Bijlagen

1

Datum 18 juli 2017

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 5 juli 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Investigation potential cardiovascular safety issues of drugs and other substances" met aanvraagnummer AVD5010020172506. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

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.

Met het oog op artikel 10a, lid 1, zijn er algemene voorwaarden gesteld.

U kunt met uw project "Investigation potential cardiovascular safety issues of drugs and other substances" starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 januari 2018 tot en met 31 december 2022. Deze termijn is anders dan in uw aanvraag, omdat U een looptijd van 6 jaar aanvraagt; de maximale looptijd van een vergunning bedraagt 5 jaar.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-TNO gevoegd. Dit advies is opgesteld op 30 juni 2017. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Dit advies van de commissie nemen wij over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Er worden

aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

Het DEC-advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Datum:

18 juli 2017

Aanvraagnummer:

AVD5010020172506

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. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven



Bijlagen:

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



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: TNO
Adres: Postbus 96800
Postcode en plaats: 2509 JE DEN HAAG
Deelnemersnummer: 50100

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 januari 2018 tot en met 31 december 2022, voor het project "Investigation potential cardiovascular safety issues of drugs and other substances" met aanvraagnummer AVD5010020172506, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-TNO. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Onderzoeker.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 5 juli 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 5 juli 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 5 juli 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 30 juni 2017, ontvangen op 5 juli 2017.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1 Investigating potential cardiovascular safety issues of drugs and other substances				
	Muizen (Mus musculus) /	1.500	5% Matig 95% Licht	

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 van de Wet op de dierproeven 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

Aanvraagnummer:

AVD5010020172506

worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in afstemming met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.



Aanvraagnummer:
AVD5010020172506

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de Dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister een ontheffing is verleend.

Verzorging

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn

Aanvraagnummer:

AVD5010020172506

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.