

# Dierproeven neen tenzij... themadag van de KU Leuven

**Kathleen Lambaerts<sup>1</sup>, Kris Meurrens<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Proefdierencentrum, Katholieke Universiteit Leuven  
Correspondentieadres: kris.meurrens@kuleuven.be*

Op donderdag 17 oktober 2019 organiseerde het Groepsbestuur Biomedische Wetenschappen van de Katholieke Universiteit Leuven (KU Leuven) samen met de Ethische Commissie Dierproeven (ECD) KU Leuven en het Proefdierencentrum KU Leuven een themadag met als onderwerp "Dierproeven, neen tenzij."

Het gebruik van dieren in wetenschappelijk onderzoek en onderwijs is in toenemende mate onderwerp van maatschappelijke discussies. Het is dan ook uitermate belangrijk dat er verantwoord wordt omgaan met proefdieren. Ook dient elke dierproef door een nauwgezette ethische afweging te worden voorafgegaan en mag de dierproef enkel uitgevoerd worden indien er geen volwaardige alternatieven beschikbaar zijn. Met de term "alternatieven voor dierproeven" wordt er hierbij gerefereerd naar de 3V principes: methoden die dierproeven Vervangen, Verminderen en/of Verfijnen.

De focus van dit symposium lag in de ochtend vooral op het schetsen van de problematiek en van de maatschappelijke en ethische context van het uitvoeren van wetenschappelijk onderzoek met dieren. In de middag werden mogelijke alternatieven aangereikt, waarbij hun voordelen en beperkingen in de verf werden gezet.

De bijeenkomst vond plaats op de Campus Gasthuisberg KU Leuven en werd bijgewoond door ongeveer 300 geïnteresseerden uit verschillende doelgroepen, waaronder professoren, onderzoekers, laboranten, studenten en dierenverzorgers. Het symposium werd geopend met een hartelijke verwelcoming en inleiding door prof. dr. Jef Arnout, voorzitter Reflectiegroep Dierproeven (KU Leuven). Deze Reflectiegroep is een intern toezichts- en adviesorgaan, bestaande uit o.a. de vice-rectoren en groepsbeheerders verantwoordelijk voor wetenschappelijk onderzoek, de voorzitter van de ECD, de directeur van het Proefdierencentrum, maar ook enkele ethici en onafhankelijken. Deze groep waakt erover dat dierproeven universiteitsbreed volledig conform de Europese, Belgische en Vlaamse regelgeving worden uitgevoerd. Zij ontwikkelt bovendien een kwaliteitssysteem met maximale inzet op dierenwelzijn (duidelijk, transparant en controleerbaar) en adviseert daarover het universiteitsbestuur. Na een korte toelichting en getuigenis door mr. Reinhild M. Bossuyt (Afb. 1), onafhankelijk lid van de ECD »



Afbeelding 1. Mevrouw mr. Reinhild Bossuyt geeft haar visie over de 3V's en vertelt over haar ervaring als onafhankelijk lid van de ECD.

en advocaat aan de balie van New York, werden multidisciplinaire lezingen verzorgd door tien sprekers uit binnen- en buitenland, alsook van de KU Leuven zelf. Prof. dr. An Zwijsen (Voorzitter ECD, KU Leuven) trad op als dagvoorzitter.

## De ethiek van proefdieronderzoek

Prof. Johan de Tavernier, decaan aan de Faculteit Theologie en Religiewetenschappen (KU Leuven, België) en voormalig lid van de ECD en de Vlaamse Proefdiercommissie (een commissie van experts uit verschillende domeinen die de minister en de bevoegde dienst Dierenwelzijn ondersteunt en adviseert m.b.t. dierproeven en de bijhorende wetgeving en beleid) beschreef hoe de waarde van het dier in de maatschappij is geëvolueerd van "dieren zijn instrumenten zonder rechten en als mens kunnen we ze voor om het even wat gebruiken" naar "dieren hebben de mogelijkheid om pijn, lijden en stress te voelen en te uiten en als mens hebben we de plicht om het welzijn van dieren te behartigen". Deze evolutie heeft er onder meer toe geleid dat dieren enkel gebruikt mogen worden in wetenschappelijke proeven als het niet anders kan en dit onder strikte voorwaarden. Zo dient men steeds gebruik te maken van een diersoort met de geringste gevoeligheid voor het ervaren van pijn en lijden, het aantal dieren tot het strikte minimum te beperken en langdurig ernstig lijden te allen tijde te vermijden. Hij benadrukte ook dat deze principes werden vastgelegd in de Europese wetgeving [1]. Wanneer prof. De Tavernier de belangrijke principes van proefdieronderzoek met zo weinig mogelijk proefdieren, liefst van lagere of minder gevoelige diersoorten, en met het minste ongerief voor het individuele dier aftoet aan de hand van de cijfers van het proefdiergebruik over de jaren heen, blijkt dat er nog veel ruimte voor verbetering is. Hij pleit tot slot voor betere tools om de harm-benefit of kosten-batenanalyse van proefdieronderzoek uit te voeren.

## Transitie naar proefdiervrij onderzoek in Nederland, adviezen van het Nationaal Comité advies dierproevenbeleid

Wim de Leeuw, lid van het Nationaal Comité advies dierproevenbeleid (NCad, Nederland) lichtte het Nederlandse advies 'Transitie naar proefdiervrij onderzoek - Over mogelijkheden voor het uitfaseren van dierproeven en het stimuleren van proefdiervrije innovatie' [2], uitgebracht door het NCad in 2016, toe. Hoewel de overgang naar proefdiervrij onderzoek binnen de diverse onderzoeksdomeinen niet vanzelfsprekend is, ziet het NCad mogelijkheden. Zo doet het NCad aanbevelingen op een drietal niveau: de doelen, de strategieën en de regie die nodig is om een dergelijke transitie in goede banen te leiden. Het NCad benadrukt ook dat het belangrijk is om bestaande denkpatronen en houdingen los te laten en het transitieproces te beschouwen als een multidisciplinair en internationaal project. Het NCad is van mening dat

Nederland een uitstekende uitgangspositie heeft om zich te profileren als toonaangevend op het gebied van proefdierlijke innovaties en onderzoek. Of dit ook internationaal een effect heeft op het verminderen van het gebruik van proefdieren in onderzoek, zal in de toekomst blijken.

De problematiek van dierproeven en alternatieve methoden in fundamenteel onderzoek Thomas Hartung, directeur van het Center for Alternatives to Animal Testing (CAAT, Amerika) maakte ons met indrukwekkende voorbeelden en cijfers duidelijk dat de beperkte reproduceerbaarheid van de resultaten voortvloeiend uit fundamenteel onderzoek, een niet te onderschatten probleem vormt. Dit zou te wijten zijn aan vele, sterk uiteenlopende factoren zoals het gebrek o.a. aan een duidelijke onderzoekshypothese, aan interne kwaliteitscontroles en van belangrijke details i.v.m. proefopzet in publicaties. Alhoewel ethisch beter aanvaard, lijkt het gebruik van cellen in in vitro studies (testen uitgevoerd in een reageerbuis of petrischaal) als alternatief eveneens reproduceerbaarheidsproblemen met zich mee te brengen. Zo blijken vele cellijnen niet correct geïdentificeerd te zijn, besmet te zijn met een mycoplasma-bacterie of is het genetische materiaal uitermate instabiel. Kortom, genoeg materie om over na te denken en te discussiëren tijdens de koffiepauze.

### **Waarom zijn systematische reviews in het preklinisch onderzoek van cruciaal belang?**

Merel Ritskes-Hoitinga, professor aan het SYstematic Review Center for Laboratory animal Experimentation (SYRACLE, Nederland) sprak over het belang van het uitvoeren van systematische reviews (SR) vooraleer een onderzoek met dierproeven te starten. In SR worden alle reeds bestaande wetenschappelijke publicaties, relevant voor een zeer specifieke vraag, geïdentificeerd, objectief geselecteerd, kritisch beoordeeld op kwaliteit en vervolgens samengevat. Dit met als doel een betrouwbaar totaaloverzicht van de beschikbare informatie te krijgen en zo een op feiten gebaseerde beslissing mogelijk te maken. SR zijn belangrijk om de kwaliteit van het preklinische onderzoek en de kans dat de gevonden resultaten effectief bruikbaar zijn in klinische studies, in te schatten. SR geven enerzijds ondubbelzinnig weer op welke vlakken er kennis ontbreekt en kunnen anderzijds vermijden dat dierproeven onnodig herhaald worden. Kortom, SR zijn belangrijk voor de kwaliteit van de onderzoeksresultaten, het garanderen van het dierenwelzijn en de bruikbaarheid van de verkregen resultaten naar de mens.

### **De problematiek rond in vivo en in vitro ziektemodellen**

De reproduceerbaarheids crisis van in vivo onderzoek werd verder verduidelijkt door Jan van der Valk, hoofd van het 3Rs-Centre Utrecht Life Sciences (ULS, Nederland) en partner in de Utrecht Advanced In vitro Models Hub (U-AIM, Nederland). In zijn presentatie wees hij erop dat het effect van een ad libitum voedselregime, het geslacht van het dier, de variatie tussen verschillende onderzoekslaboratoria en de variatie in fysiologische en genetische kenmerken in verschillende dierstammen door genetische drift op de verkregen onderzoeksresultaten, niet onderschat mag worden. Tevens toonde de spreker aan dat in vitro celculturen vergelijkbare problemen kennen. Dit neemt echter niet weg dat in vitro modellen een goed alternatief vormen zolang de onderzoekers zich bewust zijn van de problematiek. Zo dienen onderzoekers voldoende aandacht te schenken aan de experimentele opzet, op de hoogte te blijven van 'goede celweekpraktijken' en de verkregen resultaten met de noodzakelijke proefopzet-details te publiceren.

### **PREPARE: richtlijnen voor het plannen van proefdieronderzoek**

Adrian Smith (Afb. 2), de secretaris van het "National Consensus Platform voor de 3V's: Vervanging, Vermindering en Verfijning (NORECOPA, Noorwegen)" maakte van de volgende dertig minuten gebruik om de PREPARE-richtlijnen voor te stellen. In 2010 werden de Animal >>



Afbeelding 2. Prof. Adrian Smith vergelijkt PREPARE-richtlijnen met de luchtvaartinstructies – en checklijsten.

Research: Reporting of In Vivo Experimenten (ARRIVE)-richtlijnen [3] uitgebracht. Deze richtlijnen hebben als doel de gepubliceerde informatie te maximaliseren en zo de reproduceerbaarheid van publicaties, gebaseerd op onderzoek met dieren, te verbeteren en onnodige studies te vermijden. Maar omdat de kwaliteit van een experiment niet alleen verbeterd wordt door resultaten retrospectief beter te beschrijven, maar ook omdat een goed experiment begint bij een grondige planning voor aanvang, werden in 2018 de Planning Research and Experimental Procedures on Animals: Recommendations for Excellence (PREPARE) -richtlijnen [4] gepubliceerd. De cruciale verschillen met de ARRIVE-richtlijnen zijn o.a. de aandacht voor de noodzakelijke communicatie tussen de wetenschappers, laboranten en dierenverzorgers, de gezondheidsstatus en de huisvesting van de dieren en de opleidingen en veiligheid van de uitvoerende onderzoekers en dierenverzorgers. Als afsluiter voor de lunch kregen we een korte film te zien waarin de essentiële boodschap achter de PREPARE-richtlijnen werd vergeleken met de vele veiligheidschecks in de luchtvaart (<https://vimeo.com/358069203>).

Het belang van het gebruik van beide geslachten in zowel preklinisch als klinisch onderzoek Prof. Peter Brouckaert (Universiteit Gent, België) startte zijn uiteenzetting met het feit dat medicatie voor te hoge bloeddruk vooral een positief effect heeft op mannen in vergelijking met vrouwen. Hoe valt dit te verklaren? Preklinische onderzoeksresultaten blijken voornamelijk gebaseerd te zijn op het testen van deze medicatie in mannelijke dieren. Men vreest immers dat de hormonale cyclus van vrouwelijke dieren voor te veel variatie in de resultaten zorgt en daarom worden in veel dierstudies geen vrouwelijke dieren ingesloten. Ook de klinische testfasen worden vooral uitgevoerd met mannelijke vrijwilligers omdat er een verbod is op het opnemen van vrouwelijke testpersonen in hun vruchtbare levensfase. Deze werkwijze is verre van ideaal want het is duidelijk dat het ontstaansmechanisme van hypertensie of hoge bloeddruk, evenals van andere aandoeningen zoals o.a. depressie, de ziekte van Alzheimer en osteoporose, sterk verschilt tussen mannen en vrouwen. Aangezien de translatie van fundamenteel onderzoek naar behandeling relevant is voor zowel vrouwelijke als mannelijke patiënten, is het aanbevolen om alvast in het preklinisch dieronderzoek, waar mogelijk beide geslachten te bestuderen en vervolgens apart te analyseren. Het gebruik van beide geslacht- >>

ten hoeft niet tot hogere aantallen proefdieren te leiden; het kan uiteindelijk zelfs voor een vermindering zorgen omdat kweekkolonies zo optimaler gebruikt kunnen worden.

Het gebruik van organoïden in het onderzoek naar ziektemechanismen en medicijnen Prof. Catherine Verfaillie (KU Leuven, België) introduceerde ons in de wereld van organoïden. Organoïden zijn klompjes cellen die zich in een kweekschaaltje organiseren op een manier die zeer gelijkaardig is aan de structuur van het orgaan waarvoor ze als model dienen. Een organoïde is dus een primitief mini-orgaan dat lichaamsfuncties van een bepaald orgaan nabootst en heeft bovendien alle genetische eigenschappen van het organisme waaruit ze geïsoleerd werden. Door deze eigenschappen zijn organoïden een uitstekend onderzoeksmodel voor het ontrafelen van ziektemechanismen en het testen van nieuwe drugs. Door het gebruik van humane stamcellen voor het maken van organoïden sluiten deze beter aan bij de fysiologie van de mens en kunnen de resultaten sneller vertaald worden naar de klinische situatie. Prof. Verfaillie besprak in detail twee methodes om zogenaamde “organoïden” vanuit stamcellen te verkrijgen. Hierbij benadrukte ze telkens dat, net zoals elk ander model, ook organoïden hun sterktes en zwaktes hebben. Op dit ogenblik zorgen organoïden zeker voor een vermindering van het aantal proefdieren. Tijd zal echter moeten uitwijzen of organoïden het proefdier volledig kunnen vervangen.

### **Gehumaniseerde diermodellen voor de ziekte van Alzheimer**

Dr. Annerieke Sierksma, postdoctoraal onderzoeker in het laboratorium van prof. Bart de Strooper (KU Leuven, België) begon haar presentatie met enkele feiten over de ziekte van Alzheimer. De ziekte van Alzheimer is de meeste voorkomende vorm van dementie, veroorzaakt door het langzaam en geleidelijk afsterven van hersencellen. Momenteel kan men van deze ziekte nog niet genezen en staat de ziekte van Alzheimer, samen met andere vormen van dementie, op de derde plaats in de landen met een hoge welvaart wat betreft oorzaak van overlijden. Het onderzoek naar de ziekte van Alzheimer ontving de voorbije jaren kritiek. Zo werd nieuwe medicatie van de markt gehaald wegens veiligheidsredenen of het gebrek aan verbetering van de symptomen. Ook blijken de veelgebruikte muismodellen onvoldoende representatief te zijn voor het ziekteverloop bij de mens. Dr. Sierksma deelde haar ervaring met zogenaamde ‘chimere’ muismodellen met ons. Dat is een nieuwe methode in het Alzheimeronderzoek waarbij men menselijke stamcellen isoleert, deze laat uitgroeien tot verschillende hersenceltypes en deze vervolgens implanteert in de hersenen van muizen. Dit model lijkt veelbelovend. Zo blijken de menselijke cellen zich te verplaatsen naar de verschillende delen van de hersenen en connecties te maken met hersencellen van de muis. Ook blijken de menselijke cellen te incorporeren in regio’s met zogenaamde amyloïde plakken, een abnormale ophoping tussen de zenuwcellen van een specifiek eiwit dat in verband wordt gebracht met de ziekte, en lijken de menselijke cellen ook gevoelig te zijn voor degeneratie. Al deze kenmerken samen maken deze chimere muizen een relevant en veelbelovend model in het onderzoek naar de ziekte van Alzheimer.

### **RE-Place, database voor alternatieve methodes voor proefdieronderzoek**

De laatste spreker van dit boeiende symposium was dr. Birgit Mertens, medewerker van RE-Place (België). Het RE-Place project (<https://www.re-place.be/>) is een initiatief van de Vlaamse minister voor Dierenwelzijn en heeft als doel bestaande kennis wat betreft “Nieuwe aanpak methodologieën” (NAMs, alternatieve methodes voor proefdieronderzoek) in Vlaanderen en Brussel in een centrale database te verzamelen. Op deze manier wil men het gebruik en de verdere ontwikkeling van NAMs stimuleren en de bestaande hiaten wat betreft kennis identificeren. We kregen een uitgebreide uitleg hoe bepaalde technieken in de database konden worden opgezocht maar ook over hoe eigen kennis en technieken konden worden ingevoerd.

Dr. Mertens benadrukte dat het inbrengen van eigen kennis onderzoekers de mogelijkheid geeft hun werk in de kijker te zetten waardoor ook contacten vlotter zullen verlopen, er op een efficiëntere manier kan worden samengewerkt en kennis kan worden uitgewisseld. Voorlopig is dit project beperkt tot gebruik van NAMs in Vlaanderen en Brussel, maar verdere uitbreiding naar andere regio's en landen wordt niet uitgesloten.

De lezingen werden beëindigd met een dankwoord aan em. prof. dr. Bruno Goddeeris die sinds 1998 voorzitter van de ECD, KU Leuven was en die in 2019 zijn opdracht heeft doorgegeven aan prof. dr. An Zwijsen. De afsluitende receptie werd gekenmerkt door interessante nabesprekingen en de positieve respons van de aanwezigen.



*Afbeelding 3.  
Prof. Arnout (l.) dankt Prof. Goddeeris (r.) voor zijn jarenlange inzet als voorzitter van de ECD.*

## Literatuur

1. Publicatieblad van de Europese unie (2010). Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. In: The Official Journal of the European Union. L276 pp. 33-79
2. Nationaal Comité advies dierproevenbeleid (2016). Transitie naar proefdier-vrij onderzoek: over mogelijkheden voor het uitfaseren van dierproeven en het stimuleren van proefdier-vrije innovatie. Den Haag: Nationaal Comité advies dierproevenbeleid (NCad)
3. Kilkenny C et al. (2010) Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research. PLoS Biology 8(6): e1000412. doi: 10.1371/journal.pbio.1000412
4. Smith AJ et al. (2017) PREPARE: guidelines for planning animal research and testing. Laboratory Animals 52(2): 135-141

De organisatie van het proefdierenonderzoek aan KU Leuven wordt toegelicht op de website <https://gbiomed.kuleuven.be/nl/Wetenschappelijkonderzoekmetbehulpvanproefdieren/regelgeving-en-ethiek>

«