

INVENTARISATIE:

HET BELANG VAN DIERPROEVEN EN MOGELIJKHEDEN TOT VERMINDERING
DAARVAN IN FUNDAMENTEEL NEUROWETENSCHAPPELIJK ONDERZOEK



2019 Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW)

© Sommige rechten zijn voorbehouden / Some rights reserved

Voor deze uitgave zijn gebruiksrechten van toepassing zoals vastgelegd in de Creative Commons licentie. [Naamsvermelding 3.0 Nederland]. Voor de volledige tekst van deze licentie zie <http://www.creativecommons.org/licenses/by/3.0/nl/>

Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen

Postbus 19121, 1000 GC Amsterdam

Telefoon + 31 20 551 0700

knaw@knaw.nl

www.knaw.nl

pdf beschikbaar op www.knaw.nl

Basisvormgeving: Edenspiekermann, Amsterdam

Engelse vertaling samenvatting: Balance, Maastricht

Opmaak en beeldbewerking: Ellen Bouma

Foto omslag: Blue nerve celle/iStock

ISBN 978-90-6984-733-7

Deze publicatie kan als volgt worden aangehaald: KNAW (2019). *Inventarisatie: Het belang van dierproeven en mogelijkheden tot vermindering daarvan in fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek*, Amsterdam, KNAW.

INVENTARISATIE:
HET BELANG VAN DIERPROEVEN
EN MOGELIJKHEDEN TOT VERMINDERING DAARVAN
IN FUNDAMENTEEL NEUROWETENSCHAPPELIJK
ONDERZOEK

Inventarisatie gemaakt op verzoek van de ministeries van Landbouw, Natuur en
Voedselkwaliteit en Onderwijs, Cultuur en Wetenschap.
Juni 2019

VOORWOORD

Al jaren behoort Nederland wereldwijd tot de koplopers waar het gaat om de bescherming van proefdieren en het zoveel mogelijk beperken van dierproeven in (fundamenteel) wetenschappelijk onderzoek¹. Waar mogelijk worden dierproeven in Nederland vervangen door alternatieven; waar dat niet kan, wordt het aantal dieren zoveel mogelijk beperkt en wordt het ongerief voor proefdieren zoveel mogelijk gereduceerd. Niettemin bestaat in de Nederlandse samenleving en politiek de wens om te zoeken naar extra inspanningen om de leidende positie van Nederland op dit terrein verder te versterken.

In 2016 adviseerde² het Nationaal Comité advies dierproevenbeleid (NCad) aan de toenmalige staatssecretaris van Economische Zaken over aanvullende mogelijkheden. Het NCad onderscheidde in zijn advies vier domeinen. Eén daarvan was (naast ‘onderwijs’, ‘wettelijk voorgeschreven onderzoek’ en ‘toegepast en omzettingsgericht onderzoek’) het domein van het fundamenteel wetenschappelijk onderzoek. Het NCad deed geen voorspellingen over de ontwikkeling van de noodzaak van dierproeven in dit domein en voorzag dat de ontwikkelingen per discipline sterk zullen variëren.

De betrokken ministeries vroegen daarop aan de Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW) een ‘streefbeeld’ uit te werken voor innovaties alleen voor het domein van het fundamenteel wetenschappelijk onderzoek, aansluitend op wetenschappelijke kernvragen in uiteenlopende disciplines.

De KNAW stelde daarop een commissie in³ onder voorzitterschap van prof. dr. W.E. Bijker. Die kreeg als taak om, bij wijze van *pilot*, specifiek de situatie in de fundamentele neurowetenschappen te verkennen. Doel van de KNAW was om voor de komende tien jaar innovatieve onderzoeksmethoden in dit wetenschapsgebied in kaart te brengen die potentie hebben in het streven dierproeven waar mogelijk te vervangen, te verminderen of te verfijnen. Het zijn methoden en technieken die in recente jaren zijn opgekomen en die soms kunnen dienen als alternatief voor of als aanvulling op proefdieronderzoek.

1 <https://api.worldanimalprotection.org/indicators>; Nederland is één van negen landen met een ‘A’, de hoogste score.

2 NCad 2016a.

3 Instellingsbesluit Commissie, 13 februari 2018.

Voor de KNAW stond voorop dat de fundamentele neurowetenschappen in Nederland volop in staat moeten blijven om belangrijke onderzoeksvragen over onze hersenen te beantwoorden, en zo te helpen antwoorden te vinden op zeer grote uitdagingen waar onze samenleving voor staat. Een tweede belangrijk uitgangspunt, in het verlengde daarvan, was dat de Nederlandse neurowetenschappen internationaal gezien hun hoge kwaliteit kunnen behouden of versterken.

Een brede verkenning van de commissie-Bijker leverde bouwstenen voor deze inventarisatie. KNAW-leden uit het domein Medische, Medisch-Biologische en Gezondheidswetenschappen droegen inzichten aan over het volle spectrum van methoden dat wordt gebruikt in fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek.

In dit stuk zet de KNAW een aantal innovatieve onderzoeksmethoden op een rij en beschrijft hun — vooralsnog relatief bescheiden — potentie om de komende tien jaar bij te dragen aan de beschikbaarheid van alternatieven voor diergebonden onderzoeksmethoden. De Akademie spreekt daarbij niet van een ‘streefbeeld’ voor een ‘transitie naar proefdiervrij onderzoek’. Zoals in de inventarisatie zelf nader is uitgelegd, zouden zulke bewoordingen het risico met zich meebrengen dat onrealistische verwachtingen worden gewekt. Naast de gerechtvaardigde hoop en wens van de samenleving dat dierproeven waar mogelijk sneller worden vervangen, verminderd of verfijnd, staat het feit dat de fundamentele neurowetenschappen grote onderzoeksvragen moeten en kunnen beantwoorden en dat daarvoor in de nu voorzienbare toekomst dierproeven helaas nog onontbeerlijk zullen zijn.

De KNAW wil actief bijdragen aan een dialoog tussen politiek, maatschappelijke organisaties en wetenschappers over mogelijkheden om, mede op basis van deze inventarisatie, verdere ontwikkeling van alternatieven voor dierproeven daar waar passend en mogelijk te stimuleren. Ze zal daartoe op korte termijn initiatieven nemen.

Voor zo’n grondige, realistische aanpak zullen wel gerichte extra investeringen nodig zijn. De KNAW benadrukt dat dergelijke initiatieven de mogelijkheden voor neurowetenschappelijk onderzoek in Nederland zullen moeten versterken, niet verzwakken.

Tot slot: de KNAW is veel dank verschuldigd aan de commissie-Bijker en aan de vele reviewers en KNAW-leden wier commentaar en inbreng belangrijk hebben bijgedragen aan de grondigheid ervan⁴.

Wim van Saarloos,
President KNAW.

4 Zie Bijlage 3: Verantwoording.

INHOUD

VOORWOORD 4

SAMENVATTING 8

SUMMARY 13

1. **FUNDAMENTEEL NEUROWETENSCHAPPELIJK ONDERZOEK** 17
 - 1.1 Fundamenteel onderzoek zoekt antwoorden op uitdagingen voor de maatschappij 18
 - 1.2 Fundamenteel onderzoek is intrinsiek onvoorspelbaar 18
 - 1.3 Fundamentele onderzoeksvragen, niet methoden zijn het vertrekpunt 19

2. **VRAGEN VOOR DE FUNDAMENTELE NEUROWETENSCHAPPEN** 20
 - 2.1 Fundamenteel neuro-onderzoek vereist integratie van biologische organisatieniveaus 20
 - 2.2 Modelsystemen in fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek 22
 - 2.3 Fundamenteel neuro-onderzoek vergt combinaties van methoden en technieken 23

3. **DIERPROEVEN IN NEUROWETENSCHAPPELIJK ONDERZOEK** 25
 - 3.1 3V-beleid: vervanging, vermindering en verfijning van dierproeven 27
 - 3.2 Wet- en regelgeving voor de huidige praktijk 28
 - 3.3 Dierproeven in fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek 29

4. **ONTWIKKELINGEN MET POTENTIE VOOR 3V-BELEID** 31
 - 4.1 iPSC-technologie, organoïden en organs-on-chips 32
 - 4.2 Niet-invasief onderzoek bij de mens 35
 - 4.3 (Her)gebruik van (big) data en lichaamsmateriaal 40
 - 4.4 Digitale modellen 45
 - 4.5 Invasief onderzoek bij de mens 47

5. **CONCLUSIES** 49

BIJLAGEN

1. Actuele vragen in de neurowetenschappen 52
2. Geraadpleegde literatuur 56
3. Verantwoording 60
4. Opdrachtbrieven 63

SAMENVATTING

In antwoord op vragen van de ministeries van Onderwijs, Cultuur en Wetenschap en van Economische Zaken (inmiddels valt het dossier onder het ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit) heeft de KNAW een inventarisatie gemaakt van innovatieve onderzoeksmethoden en -technieken in de fundamentele neurowetenschappen die potentie hebben om bij te dragen aan het streven om dierproeven waar mogelijk te vervangen, te verminderen of te verfijnen.

Hierin zijn uiteenlopende innovatieve neurowetenschappelijke methoden, variërend van moleculaire technieken tot onderzoeksmethoden op het niveau van populaties, geïnventariseerd.

Doorslaggevende vraag in de inventarisatie was niet of een techniek of methode al of niet dierproeven omvat, maar of een methode antwoord kan geven op belangrijke en actuele onderzoeksvragen in het betreffende wetenschapsgebied. Voor de KNAW is daarnaast ook essentieel dat de onderzoekskwaliteit op een terrein waar Nederlandse onderzoekers internationaal excelleren niet wordt ingeperkt.

Fundamenteel wetenschappelijk onderzoek

Deze inventarisatie betreft specifiek 'fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek'. Binnen het kader van deze inventarisatie definieert de KNAW dat begrip als al het onderzoek dat probeert centrale zenuwstelsels in veranderende omgevingen grondig te kennen en te begrijpen, ook wanneer dat wordt gedaan met de primaire drijfveer om te komen tot nuttige toepassingen.

In Nederland wordt veel fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek gedreven door de wens antwoorden te vinden op grote uitdagingen voor onze maatschappij. Zo is één op de vijf sterfgevallen in Nederland het directe of indirecte gevolg van een hersengerelateerde aandoening en bedragen de zorgkosten voor zulke aandoeningen jaarlijks ruim € 25 miljard. Daarvoor is meer begrip nodig van wat wel het meest complexe levende systeem in het universum wordt genoemd: miljarden zichzelf ontwikkelende en organiserende menselijke hersencellen en de talloze verbindingen met hun directe en wijdere omgeving.

Fundamenteel onderzoek is intrinsiek onvoorspelbaar. Over tien jaar kunnen nieuwe inzichten, nieuwe onderzoeksmethoden en -technieken of nieuwe onderzoeksvragen het perspectief grondig hebben veranderd.

Actuele vragen voor fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek

De fundamentele neurowetenschappen bestuderen alle aspecten van de hersenen, het zenuwstelsel en de zintuigen en de onderlinge relaties tussen al deze aspecten, inclusief hun interactie met omgevingsfactoren, bijvoorbeeld via cognitief en sociaal gedrag.

Voor de inventarisatie werden voorbeelden verzameld van nog onbeantwoorde onderzoeksvragen. De vragen belichamen de centrale uitdaging voor het vakgebied: het leren begrijpen van de wisselwerking tussen alle biologische niveaus, van moleculen en cellen tot en met populaties en omgevingen. Dat vereist de integratie van onderzoek op al deze niveaus en een breed scala aan modellen, methoden en technieken. Die omvatten naast in-vivo- en in-vitro-onderzoek ook in-silico-, ex-vivo-, klinisch, genetisch, gedrags-, epidemiologisch en ecologisch onderzoek.

Dierproeven in neurowetenschappelijk onderzoek

Dierproeven zijn in de geschiedenis een belangrijk onderdeel geweest van neurowetenschappelijk onderzoek. De meeste kennis op het gebied is voortgekomen uit onderzoek waar dierproeven deel van uitmaakten. Dierproeven maken onder meer gecontroleerd (gedrags)onderzoek gedurende langere periodes mogelijk en bestudering van meerdere generaties over betrekkelijk korte tijd.

Krachtige, in sommige opzichten spectaculair vernieuwende technieken in gebieden als transgenese, cellulaire imaging, elektrofysiologie en optogenetica kunnen alleen in dierproeven worden ingezet.

Dankzij de ontwikkeling van CRISPR-Cas, bijvoorbeeld, een techniek om genen in proefdieren als muizen, ratten en vissen heel precies en gericht te veranderen, kan onderzoek nu de bijdrage van individuele genen aan complexe hersenprocessen en -ziekten ontrafelen. Specifieke genafwijkingen die bij de mens bijdragen aan ziekten kunnen in diermodellen worden gereproduceerd.

Grote vooruitgang is ook geboekt bij methoden om de hersenen van proefdieren in beeld te brengen en hun activiteit tot op cellulair niveau te meten. Door middel van optogenetica kunnen hersencellen van buitenaf worden aan- en uitgeschakeld door middel van lichtpulsen.

De mogelijkheid om met zulke revolutionaire technieken veel nieuwe kennis te verzamelen heeft in recente jaren wereldwijd her en der tot een intensivering van dierproeven geleid. Ook in Nederland wordt geïnvesteerd in de ontwikkeling van innovatieve technieken en betere diermodellen.

Tegelijk is in de afgelopen decennia ook in de fundamentele neurowetenschappen grote vooruitgang geboekt bij het zo veel mogelijk beperken van dierproeven. Cruciaal daarin waren de '3V's', die de basis zijn voor beleid en regelgeving in Nederland. Volgens dit principe streven onderzoekers waar mogelijk naar (1) vervanging van dierproeven door dierproefvrije alternatieve methoden, (2) vermindering van het aantal dieren per experiment voor zover methodologisch verantwoord, en (3) verfijning van dierproeven, opdat proefdieren zo min mogelijk ongerief ondervinden. De KNAW steunt dit 3V-beleid met overtuiging en past het ook toe op de eigen instituten.

Toepassing van de 3V's is in Nederland wettelijk geregeld en met grondige procedures geborgd. Ook wordt voor elke dierproef in Nederland het ongerief voor dieren ethisch afgewogen tegen het belang van de te verwerven kennis. Nederlandse onderzoekers gebruiken dus alleen dierproeven als die noodzakelijk zijn om een belangrijke onderzoeksvraag te beantwoorden en maken effectief gebruik van al langer bestaande en nieuwe alternatieven voor dierproeven.

In recente jaren werd een groeiend aantal dierproeven ten behoeve van fundamenteel wetenschappelijk onderzoek in het algemeen geregistreerd. Over specifiek de neurowetenschappen bestaan geen precieze registraties. Wel kan uit toegekende vergunningen worden afgeleid dat het overgrote deel van de proefdieren in dit vakgebied in recente jaren muizen, ratten en vissen betreft.

Innovatieve technieken en methodes

Uiteenlopende methoden en technieken die in recente jaren een hoge vlucht namen, hebben potentie om bij te dragen aan de ambities op het gebied van de 3Vs. Deze inventarisatie beschrijft vijf soorten ontwikkelingen.

1. *iPSC-technologie, organoïden en organs-on-chips*: technieken op basis van weefsels gekweekt uit humane stamcellen en sterk geminiaturiseerde *devices* waarin levende cellen via minuscule reservoirs en kanalen worden gevoed en met elkaar in verbinding staan;
2. *Niet-invasief onderzoek bij de mens*: methoden die geen of kortdurende negatieve gevolgen hebben voor proefpersonen, zoals beeldvormend onderzoek, *experience sampling* door middel van vragenlijsten en uitwendige *monitoring*, en het onderzoeken van proefpersonen in een *virtual of augmented reality*;
3. *Hergebruik van (big) data en lichaamsmateriaal*: initiatieven om (ruwe) data en lichaamsmaterialen die zijn of worden verzameld in onderzoek beter en meer gestandaardiseerd te bewaren, doorzoekbaar en (vrij) toegankelijk te maken;
4. *Digitale modellen*: technologie om met hulp van algoritmes en kunstmatige intelligentie interacties tussen componenten van het zenuwstelsel in computers te modelleren en na te bootsen;
5. *Invasief onderzoek bij de mens*: technieken om tijdens medische behandelingen van bepaalde patiënten ook fundamentele kennis te verzamelen, zoals *deep brain stimulation*, directe elektrische stimulatie en transcranieële magnetische stimulatie.

Bij de ontwikkeling van sommige van deze technieken, zoals organoïden, maken Nederlandse onderzoekers deel uit van de voorhoede van het internationale onderzoek.

De KNAW constateert dat innovaties in deze categorieën de komende tien jaar nieuwe opties zullen bieden voor onderzoek waarin geen, minder of meer verfijnde dierproeven hoeven te worden toegepast. Tegelijk constateert de KNAW echter met enige nadruk dat de beschreven technieken en methoden serieuze beperkingen hebben, en dat hun bijdrage aan het fundamenteel onderzoek daardoor vooralsnog relatief bescheiden is en zal blijven.

Conclusies

De KNAW concludeert dat de geïnventariseerde innovatieve methoden en technieken potentie hebben om zich de komende tien jaar verder te ontwikkelen, maar dat ze op zichzelf voorlopig geen antwoord zullen kunnen geven op de belangrijkste onderzoeksvragen in het wetenschapsgebied – vragen die cruciaal zijn voor de hersengereleerde uitdagingen waar onze samenleving voor staat.

Die 'grote onderzoeksvragen' vereisen integratie van kennis en inzichten op verschillende biologische niveaus, van moleculaire processen tot en met de ontwikkeling van sociaal gedrag van organismen en populaties. Dat vereist onderzoek met een mix van methoden en technieken. Naast diervrije en dierarme methoden zijn en blijven dierproeven in de voorzienbare toekomst onmisbare en belangrijke basiscomponenten van die mix en noodzakelijk voor het doen van excellent fundamenteel hersenonderzoek.

De KNAW kan geen betrouwbare voorspellingen doen over de ontwikkeling van het aantal noodzakelijke dierproeven voor fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek. Tegenover ontwikkelingen die in de toekomst mogelijk dierproeven kunnen besparen staan ontwikkelingen die, zeker op korte termijn, de noodzaak van dierproeven juist lijken te vergroten.

Wel signaleert de KNAW dat per dierproef nu veel meer kennis wordt verzameld dan voorheen en dat het onderzoek zich steeds meer concentreert op muizen, ratten en vissen en minder op grotere zoogdieren. Die trends zullen zich naar de verwachting van de KNAW de komende jaren voortzetten.

SUMMARY

In response to a request from the Dutch Ministries of Education, Culture and Science (OCW) and Agriculture, Nature and Food Quality (LNV, previously a part of the Ministry of Economic Affairs), the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences (KNAW) has prepared an inventory of innovative research methods in basic neurosciences that might have potential to boost ongoing efforts to replace, reduce or refine animal experimentation. To that end, developments in a broad range of innovative methods and techniques, ranging from molecular techniques to research methods at the population level, have been described and evaluated.

For the Academy, one key question was whether new techniques or methods will be able to provide answers to the most important current research questions in the neuroscience field. A second precondition was that the quality of research, especially in an area in which Dutch research excels today, should not be impaired.

Basic research

The scope of this inventory is limited to basic research in the neurosciences. For the purpose of this report, the Academy defined the term as all research that seeks fundamental understanding of central nervous systems in changing environments, including research that is inspired by a quest to find useful applications.

In the Netherlands, much basic neuroscience research is indeed driven by a desire to find answers to major challenges our society faces. For example, one in five deaths in the Netherlands is the direct or indirect consequence of a brain-related disorder and healthcare costs for such disorders exceed € 25 billion annually. That requires a better understanding of what has been called the most complex living system in the universe: billions of developing and self-organizing human brain cells and their countless connections with immediate and wider environments.

Basic research is intrinsically unpredictable. In ten years' time, new insights, new research methods and techniques or new research questions may have thoroughly changed the perspective in a scientific field.

Current questions for basic neuroscience research

Basic neurosciences study all aspects of the brain, the central nervous system, the senses and the interrelationships between all these aspects, including their interaction with environmental factors, for example through cognitive and social behaviour.

For this inventory, examples of unanswered research questions were collected. These questions exemplify the central challenge for the discipline: learning to understand the interaction between all biological levels, from molecules and cells to populations and environments. It requires the integration of research at all these levels and a wide range of models, methods and techniques. In addition to in vivo and in vitro research, these also include silico, ex vivo, clinical, genetic, behavioural, epidemiological and ecological research.

Animal experimentation in neuroscience research

Historically, animal experimentation has always been an important element of neuroscience research. Most of the field's body of knowledge has come from research that included such experimentation.

Animal experimentation enabled researchers to do long-term and controlled (behavioural) studies and study several generations over a relatively short period of time.

Powerful or even spectacular innovative techniques in areas such as transgenesis, cellular imaging, electrophysiology and optogenetics can only be used in animal experiments.

Thanks for example to the development of CRISPR-Cas, a technique with which genes of laboratory animals such as mice, rats and fish can be modified very precisely, research can now unravel the contribution of individual genes to complex brain processes and diseases. Specific gene defects that contribute to human diseases can now be reproduced in animal models.

Significant progress has also been made on methods to visualize animal brains and to measure their activity down to the cellular level. Using a technique called optogenetics, researchers can now even use light pulses to switch individual brain cells on and off.

In recent years, these revolutionary techniques and their potential for generating important knowledge have intensified the use of animal experimentation all over the world. In the Netherlands, innovative techniques and better animal models have been invested in as well.

At the same time, great progress has been made in recent decades in reducing animal experimentation as much as possible, in basic neurosciences as well as in other fields. Crucial were the '3Rs', which form the basis for policy and regulations in the Netherlands. According to this principle, wherever possible, researchers strive to (1) replace animal experiments with alternative methods that do not require animals, (2) reduce the number of animals per experiment as far as methodologically justified, and (3) refine animal experiments so that animals experience the least possible discomfort. The Academy wholeheartedly supports and applies this 3R policy.

Application of the 3Rs is regulated by law in the Netherlands and monitored through rigorous procedures. Also, for each animal experiment in the Netherlands, the discomfort for animals is ethically weighed against the importance of the knowledge to be acquired. Dutch researchers therefore only use animal experiments if that is necessary to answer important research questions. They also make effective use of suitable alternatives, either those that have recently been developed or those that have been tested over time.

In recent years, a growing number of animal experiments for basic research generally have been registered. Precise numbers for the neurosciences specifically are not being collected. It can however be deduced from granted permits that in recent years the vast majority of animal experiments in the field involved mice, rats and fish.

Innovative techniques and methods

Various recently developed methods and techniques could have potential, at least in theory, to contribute to the 3Rs. This inventory describes five categories of developments:

1. *iPSC technology, organoids and organs-on-chips*: techniques based on tissues derived from human stem cells and miniaturized, microfluidic chip-based devices in which cultured cells interact through tiny reservoirs and channels;
2. *Non-invasive research in humans*; methods that cause no or only short-lasting harm to human subjects, including various forms of imaging, experience sampling through questionnaires and monitoring devices, and testing of human subjects in virtual or augmented reality environments;
3. *Reuse of (big) data and tissues*; initiatives aimed at making sets of (raw) data and tissues collected in previous and future research more findable, (freely) accessible, interoperable, and reusable in new research.
4. *Digital modelling*: the use of algorithms and artificial intelligence to model and simulate interactions between various components of the central nervous system in computers;

5. *Invasive research in humans*: techniques for collecting fundamental research data during treatments for certain patients, including deep brain stimulation, transcranial direct current stimulation, and transcranial magnetic stimulation.

Internationally, Dutch researchers have been at the forefront of the development of some of such techniques, such as those related to organoids.

The Academy notes that in the next ten years, innovations in these categories may offer new options for research in which either no, less, or more refined animal experiments are required. However at the same time, the KNAW explicitly notes that these methods and techniques also have serious limitations, and that their contributions to fundamental research therefore currently are and will remain relatively modest.

Conclusions

The KNAW concludes that the innovative methods and techniques described here have the potential to develop further over the next ten years, but that for the time being they will not be able to answer the most important research questions in the scientific field — questions that are crucial for the brain-related challenges that our society faces.

These ‘major research questions’ require the integration of knowledge and insights at various biological levels, from molecular processes to the development of social behaviour of organisms and populations. They require research with a mix of methods and techniques. In addition to experimental methods that require no or fewer animals, animal experimentation is and will continue to be an indispensable and important basic component of that mix in the foreseeable future, and necessary for doing high-quality fundamental brain research.

The Academy cannot make reliable predictions about the number of animal experiments that will be required in basic neuroscience research ten years from now. While some developments might reduce the need for animal experiments in some instances, other developments will, certainly in the short term, probably increase the need for animal experimentation.

The KNAW points out however that per animal experiment much more knowledge is being collected today than ever before. Basic research in the field is increasingly focusing on mice, rats and fish and less on larger mammals. The Academy expects both trends to continue in the coming years.

1. FUNDAMENTEEL NEUROWETENSCHAPPELIJK ONDERZOEK

‘Fundamenteel onderzoek’ is een van de doelen die bij de registratie van dierproeven kan worden aangemerkt, naast bijvoorbeeld ‘toegepast en omzettingsgericht onderzoek’.

Het begrip ‘fundamenteel onderzoek’ wordt soms gelezen als een verwijzing naar onderzoek dat louter door nieuwsgierigheid wordt gedreven, maar de KNAW gebruikt een ruimere definitie meer overeenkomend met die van ‘basic research’ in het wetenschapsdynamische ‘Stokes-model’.⁵

In deze definitie omvat ‘fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek’ al het onderzoek dat probeert centrale zenuwstelsels in veranderende omgevingen grondig te kennen en te begrijpen, ook wanneer dat wordt gedaan met de primaire drijfveer om te komen tot nuttige toepassingen.

Meer ‘pragmatisch’ op directe toepassing gericht onderzoek valt níét binnen de definitie. De KNAW doet in deze inventarisatie dus géén uitspraken over bijvoorbeeld (al of niet wettelijk vereist) onderzoek naar de toxiciteit van chemische stoffen of naar de veiligheid en werkzaamheid van potentiële medicijnen en nieuwe medische technologie. Ook de inzet van dieren in onderwijs maakte geen deel uit van de vraag van de ministeries.

5 Stokes 1997. In termen van dit model richt deze inventarisatie zich op onderzoek in het ‘Bohr-kwadrant’ én het ‘Pasteur-kwadrant’.

1.1 Fundamenteel onderzoek zoekt antwoorden op uitdagingen voor de maatschappij

In Nederland is veel van het internationaal toonaangevende fundamenteel neuro-wetenschappelijke onderzoek toepassingsgericht, in die zin dat het in hoge mate wordt gedreven door de wens antwoorden te vinden op grote uitdagingen voor onze maatschappij.⁶ Die uitdagingen bevinden zich op velerlei gebied, van gedragsproblemen, ADHD, autisme, eetstoornissen, schizofrenie, verslaving en depressie tot en met stoornissen zoals beroertes, vormen van dementie, trauma's en ziekten als Parkinson, multiple sclerose, infectieuze ziekten van het centraal zenuwstelsel en amyotrofische lateraal sclerose (ALS).

Eén op de vier Nederlanders heeft een hersengerelateerde aandoening en één op de vijf sterfgevallen is het directe of indirecte gevolg van zo'n aandoening. De zorgkosten voor hersenaandoeningen bedragen jaarlijks nu ruim € 25 miljard.⁷ De voortgaande vergrijzing zal veel van deze uitdagingen de komende decennia nóg urgenter maken.

Ook het bevorderen van diergezondheid en dierwelzijn kan een belangrijke drijfveer zijn voor fundamenteel onderzoek. Daarnaast kent Nederland ook excellent fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek dat niet primair wordt gedreven door toepassing op gezondheid en welzijn van mens of dier. Ook deze vormen van onderzoek hebben in de ogen van de KNAW grote waarde voor de Nederlandse samenleving, want de behoefte onszelf en ons denken te begrijpen is groot. Veel vragen in de Nationale Wetenschapsagenda hebben een relatie met de neurowetenschappen.

Om antwoorden te kunnen formuleren op al deze maatschappelijke uitdagingen is meer begrip nodig van wat wel het meest complexe levende systeem in het universum wordt genoemd: miljarden zichzelf ontwikkelende en organiserende menselijke hersencellen en de talloze verbindingen met hun directe en bredere omgeving.

1.2 Fundamenteel onderzoek is intrinsiek onvoorspelbaar

Een belangrijke beperking bij het doen van voorspellingen over fundamenteel onderzoek is dat zulk onderzoek intrinsiek onvoorspelbaar is. Fundamentele wetenschap

⁶ Zie bijvoorbeeld de missie van NeuroLabNL, een 'route' van de Nederlandse Wetenschapsagenda: 'Het gebruik van recente en nieuwe kennis over de complexe relaties tussen hersenen, cognitieve functies, gedrag en omgeving zal leiden tot vele innovaties in de gezondheidszorg, in het onderwijs en op het terrein van veiligheid.' NWA (2016). *Portfolio voor onderzoek en innovatie*, p. 59-62.

⁷ RIVM 2018.

is wel vergeleken met een bergtocht zonder routekaart; het doel (de top) is bekend, maar niemand weet of, en zo ja wanneer en langs welke route, het zal worden bereikt. Achter elke bocht kunnen onverwachte doorsteekjes liggen of juist een diepe kloof die een omweg noodzakelijk maakt.

Die onvoorspelbaarheid dwingt tot voorzichtigheid in deze inventarisatie. Over tien jaar kunnen nieuwe inzichten, nieuwe onderzoeksmethoden of nieuwe onderzoeksvragen het perspectief grondig hebben veranderd. Sommige innovatieve methoden zullen hun beloftes blijken waar te maken, van andere zal de bruikbaarheid kleiner blijken dan eerder gedacht. Het valideren van een dierproefarme methode kan op korte termijn soms juist meer dierproeven vereisen. Nieuwe onderzoeksvragen kunnen opkomen die alleen met onderzoek aan volledige organismen, zoals dieren, te beantwoorden zijn. Nieuwe, revolutionaire onderzoeksmethoden, zoals optogenetica, imagingtechnieken en elektrofysiologische afleidmethoden en analyse van grote datasets kunnen vragen om nieuwe typen dierproeven.

De KNAW doet in deze inventarisatie geen voorspelling over aantallen dierproeven die nodig zullen zijn voor fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek en kijkt, conform de vraag van de ministeries, niet meer dan tien jaar vooruit.

1.3 Fundamentele onderzoeksvragen, niet methoden zijn het vertrekpunt

In deze inventarisatie beschrijft de KNAW ontwikkelingen rond enkele in recente jaren opgekomen onderzoeksmethoden die de komende jaren potentie hebben bij het streven naar vervanging, vermindering en verfijning van dierproeven. Waar mogelijk en nodig schetst ze perspectieven voor de toekomstige ontwikkeling van zulke innovatieve methoden.

Wel moet worden benadrukt dat onderzoeksmethoden – met of zonder dierproeven – in fundamentele wetenschappen niet het vertrekpunt zijn. De kern wordt gevormd door de fundamentele onderzoeksvragen waarop de neurowetenschappen de komende decennia moeten proberen antwoorden te vinden (meer daarover in hoofdstuk 2).

Sommige van die vragen zullen mogelijk blijken te kunnen worden beantwoord met (al of niet nieuwe) dierproefarme methoden; voor andere vragen zullen methoden mét dierproeven noodzakelijk blijven of blijken.

2. VRAGEN VOOR DE FUNDAMENTELE NEUROWETENSCHAPPEN

De fundamentele neurowetenschappen bestuderen alle aspecten van de hersenen, het zenuwstelsel en de zintuigen (anatomie, fysiologie, celbiologie, moleculaire biologie, biochemie, (epi)genetica, immunologie en pathologie) en de onderlinge relaties tussen al deze aspecten, inclusief hun interactie met omgevingsfactoren, bijvoorbeeld via cognitief en sociaal gedrag. Ze proberen onze kennis van de werking van de hersenen te verdiepen.

In een verkenning voor deze inventarisatie werden uit diverse bronnen vele voorbeelden verzameld van nog onbeantwoorde vragen voor de neurowetenschappen. Ze zijn opgenomen in bijlage 1.

2.1 Fundamenteel neuro-onderzoek vereist integratie van biologische organisatieniveaus

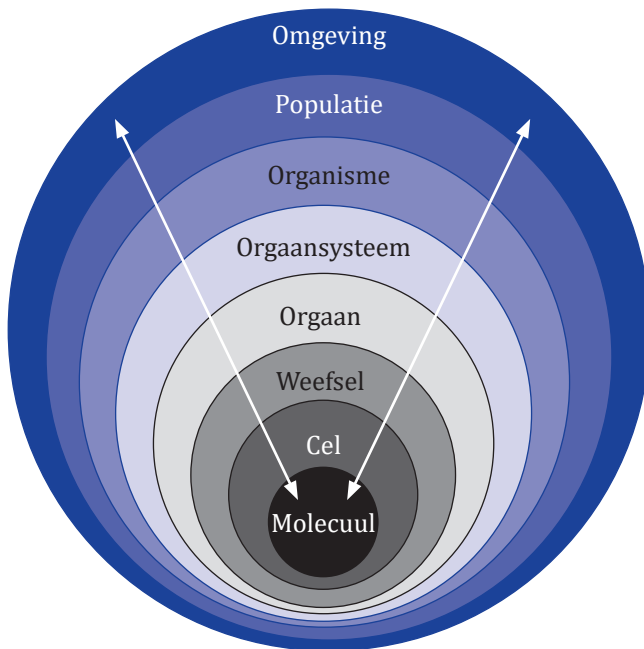
Levende systemen omvatten een continuüm van biologische organisatieniveaus, van molecuul en cel tot en met organismen, populaties en hun omgeving (zie figuur 2.1). Elk van die niveaus is op zich al complex en onderwerp van veel fundamenteel onderzoek.

Het onderzoek van de afgelopen decennia heeft veel kunnen ophelderen over bouw en functioneren van afzonderlijke componenten en niveaus van dit uiterst complexe

systeem. De grootste uitdaging ligt echter nog voor ons: het leren begrijpen van de wisselwerking tussen al deze niveaus. De dynamiek, het adaptatievermogen en de schier oneindige hoeveelheid verbindingen en signalen van het centrale zenuwstelsel maken de opgave voor de neurowetenschappen buitengewoon groot.

Veel van de urgente maatschappelijke vragen zijn ook alleen te beantwoorden als we begrijpen hoe alle niveaus op elkaar inwerken: wat is de relatie tussen moleculaire processen in de hersenen en het vaat- en immuunsysteem in de rest van het lichaam? Hoe beïnvloeden moleculaire factoren (zoals genmutaties) het ontstaan van Alzheimer of de ontwikkeling van antisociaal gedrag? Hoe werken omgevingsfactoren zoals leefstijl en stress in op de ontwikkeling, de bouw en het functioneren van ons centrale zenuwstelsel? Wat zijn de gevolgen van veroudering en veranderingen in de omgeving op hersencentra, op cellulaire circuits, op moleculen in de synaps of de dendriet van een zenuwcel?

Door de ontwikkelingen in de wetenschap én die in de meettechnieken omspannen onderzoeksvragen vandaag dus meer dan ooit tevoren verscheidene biologische niveaus en is het mogelijk en nodig om vragen op systeemniveau te bestuderen. Bij veel hedendaagse onderzoeksprojecten zijn nu daarom ook multidisciplinaire teams van onderzoekers betrokken, met expertises die meerdere biologische niveaus omspannen en met elkaar integreren.



Figuur 2.1 Een onderverdeling van het levende systeem in een aantal biologische niveaus. Alle niveaus van het systeem staan in voortdurende onderlinge wisselwerking.

2.2 Modelsystemen in fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek

Fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek maakt veel gebruik van modelsystemen. Modellen helpen wetenschappers bijvoorbeeld om componenten van het menselijk lichaam, de menselijke hersenen of de menselijke psyche na te bootsen zonder mensen schade te berokkenen of te onderwerpen aan ethisch niet te verantwoorden onderzoek. Door onderdelen van een complex systeem onder gecontroleerde omstandigheden in een vereenvoudigd model te bestuderen, kunnen onderzoekers de werkelijkheid provisorisch verkennen. Zo kunnen ze theorieën genereren die daarna aan de complete werkelijkheid kunnen worden getoetst.

Neurowetenschappelijk onderzoek gebruikt allerlei soorten modelsystemen. Zo zijn er ‘in-vitromodelsystemen’ van bijvoorbeeld celkweken of organoïden (zie hoofdstuk 4) waarin de bouw en werking van cellen en moleculen op kleine schaal kan worden bestudeerd. In digitale rekenkundige (‘in silico’) modellen worden kenmerken van systeemcomponenten in de computer opgeslagen en hun onderlinge relaties met wiskundige vergelijkingen benaderd.

In-vitromodelsystemen zijn belangrijke gereedschappen in de neurowetenschappelijke gereedschapskist, maar het blijven, per definitie, sterk vereenvoudigde, beperkte representaties van de complexe en dynamische werkelijkheid. Processen die goed zijn te modelleren op het niveau van moleculen of cellen kunnen in de bredere context van complete dieren of mensen anders blijken uit te werken. Te groot vertrouwen in zulke modellen zou dus kunnen leiden tot onterechte extrapolaties naar de werkelijkheid. Uitkomsten van modelonderzoek moeten daarom altijd worden getoetst aan levende, complete proefdieren of mensen in hun omgeving. De meeste in bijlage 1 genoemde onderzoeksvragen kunnen niet worden beantwoord met (alleen) in-vitromodelsystemen.

Door de jaren heen hebben de neurowetenschappen dan ook vooral gebruikgemaakt van in-vivodiermodellen. Die hebben als voordeel dat ze onderzoek mogelijk maken op een reeks van biologische niveaus en complexe aspecten van mensen kunnen nabootsen onder goed gedefinieerde, te controleren en gericht te veranderen omstandigheden.

Ze hebben ook beperkingen: ze vereisen bijvoorbeeld de inzet van dierproeven. En hoewel diermodellen algemeen gesproken heel geschikt zijn om de fysiologie van de mens te bestuderen, kunnen biologische eigenschappen van dieren soms ook verschillen van die van mensen. Zo kunnen de ontwikkeling, de anatomie en de werking van de hersenen op relevante punten verschillen. Voor belangrijke hersengereleerde menselijke vraagstukken, zoals depressie, ADHD of schizofrenie, kan niet altijd gemakkelijk een goed passend diermodel worden gevonden.

Recente ontwikkelingen, zoals heel gerichte genetische modificatie door middel van CRISPR-Cas, geven echter wel nieuwe mogelijkheden om in korte tijd diermodellen te genereren die nog nauwkeuriger aansluiten op wetenschappelijke vragen over de mens. Zulke ontwikkelingen hebben er ook aan bijgedragen dat per dierproef nu veel meer gerichte kennis wordt verzameld dan voorheen.⁸ Hoofdstuk 3 gaat daar nog nader op in.

2.3 Fundamenteel neuro-onderzoek vergt combinaties van methoden en technieken

De fundamentele neurowetenschappen maken gebruik van een breed spectrum aan onderzoeksmethoden en -technieken. Een aantal daarvan ontwikkelt zich de laatste jaren snel, zoals beschreven in hoofdstuk 4.

Naast in-vitro-onderzoek in reageerbuizen en onder microscopen en in-silico-onderzoek in computers is er ex-vivo-onderzoek, waaronder fysiologisch, anatomisch en beeldvormend onderzoek op dierlijk en menselijk lichaamsmateriaal.

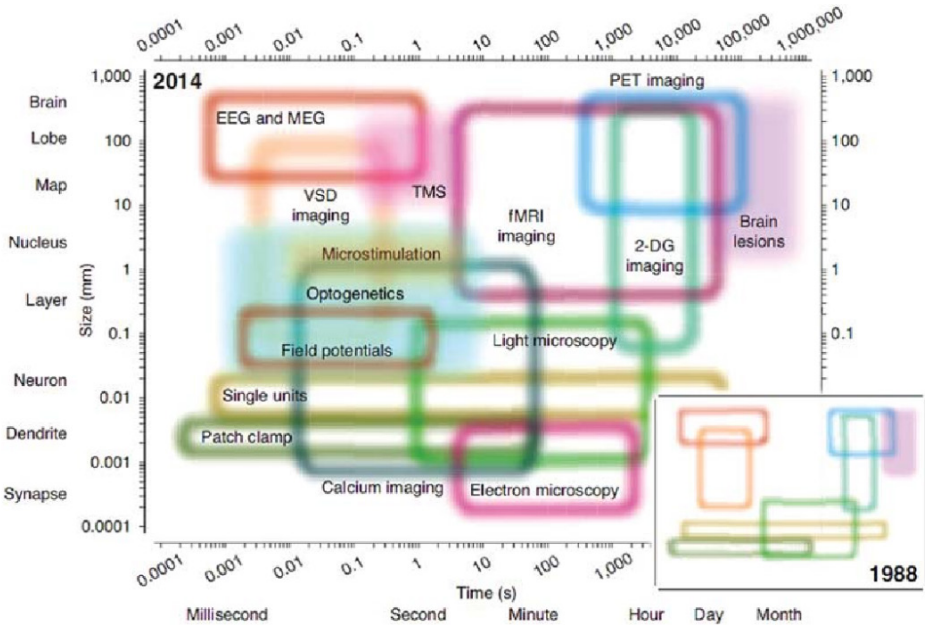
In-vivo-onderzoek omvat bijvoorbeeld fysiologisch en beeldvormend onderzoek in levende organismen, waaronder mensen en diermodellen. *Klinisch, genetisch, gedrags- en epidemiologisch* onderzoek wordt uitgevoerd bij mensen en dieren. *Ecologisch* onderzoek wordt uitgevoerd op populaties.

Voor deelaspecten of componenten van hersenen en gedrag kan één methode soms volstaan om vragen te beantwoorden. De 'grotere' vragen van de neurowetenschappen uit bijlage 1, die meerdere biologische niveaus omvatten, vereisen daarentegen bijna altijd een combinatie van methoden.

De laatste decennia lieten onder andere een sterke ontwikkeling zien in geavanceerde beeldvormende technieken, geïllustreerd door figuur 2.2. Deze figuur laat zien hoe uiteenlopende innovatieve beeldvormende technieken gebruikt kunnen worden voor waarnemingen op uiteenlopende ruimtelijke niveaus (de verticale as) en tijdschalen (op de horizontale as). Een deel van deze technieken kan worden toegepast bij onderzoek aan mensen.

Tegelijk laat de figuur zien dat geen van de beeldvormende technieken antwoord kan geven op vragen die alle tijdschalen en niveaus omvatten. Het combineren van een scala aan methoden en technieken, deels beeldvormend en deels andersoortig, blijft daarom cruciaal.

8 Cogem/Gezondheidsraad/WRR 2016.



Figuur 2.2 De ontwikkeling van beeldvormende technieken in de neurowetenschappen tussen 1988 en 2014 (overgenomen uit Sejnowski et al., 2014). Nog niet aangegeven is transcranieële functionele ultrasound (fUS). Op dit moment omspant geen enkele beeldvormende techniek alle niveaus.

Bij mensgebonden onderzoek zijn de mogelijkheden om vele technieken te combineren vooralsnog beperkt. Dierproeven geven wel de mogelijkheid om beeldvormende, anatomische, fysiologische methoden en andere technieken met elkaar te combineren.

3. DIERPROEVEN IN NEUROWETENSCHAPPELIJK ONDERZOEK

In de geschiedenis van de neurowetenschappen heeft onderzoek aan mensen veel kennis opgeleverd over menselijke hersenen op diverse biologische niveaus. Kennis kwam bijvoorbeeld uit psychologische experimenten en gedragswaarnemingen aan gezonde proefpersonen en patiënten met uiteenlopende stoornissen of hersenbeschadigingen. Biologisch hersenmateriaal kon worden bestudeerd dankzij weefsel afkomstig van geopereerde patiënten of overledenen die hun hersenen ter beschikking hadden gesteld aan de wetenschap. De laatste decennia geeft de opkomst van geavanceerde scanapparatuur, zoals functionele MRI en functionele ultrasound, steeds meer opties om van buitenaf hersenen in actie te bestuderen.

Onderzoek aan menselijke hersenen heeft echter ook belangrijke ethische en methodologische beperkingen. Zo mogen patiënten of gezonde proefpersonen geen schade van onderzoek ondervinden. Invasief anatomisch of fysiologisch onderzoek, het volgen van hersenactiviteit van individuele personen gedurende langere tijd, het bestuderen van gedrag onder gestandaardiseerde of gecontroleerde omstandigheden of het ontrafelen van oorzaak-gevolgrelaties tussen erfelijke factoren, de hersenen en de omgeving — het zijn maar enkele voorbeelden van onderzoek dat bij mensen niet of maar heel beperkt mogelijk is.

Dierproeven maken onder andere gecontroleerd (gedrags)onderzoek gedurende langere periodes mogelijk en bestudering van meerdere generaties over betrekkelijk korte tijd. Zorgvuldig opgezette dierproeven zijn mede daarom altijd een cruciaal onderdeel geweest van neurowetenschappelijk onderzoek. Sinds 1906 hebben veertig neurowetenschappers de Nobelprijs voor Fysiologie en Geneeskunde gekregen en al deze prijzen waren gebaseerd op proefdieronderzoek.⁹

⁹ www.nobelprizemedicine.org/selecting-laureates/history/the-nobel-prizes-in-the-field-of-neuroscience.

Het meeste van wat we nu weten over ons centraal zenuwstelsel, en dus ook over de biologische aspecten van hersen- en zenuwziekten, psychische aandoeningen en ernstige stoornissen in gedrag, is voortgekomen uit onderzoek waar dierproeven deel van uitmaakten.

De laatste decennia zijn krachtige, in sommige opzichten spectaculair vernieuwende technieken opgekomen op terreinen als transgenese, cellulaire imaging, elektrofysiologie en optogenetica, die alleen in dierproeven kunnen worden ingezet.

Op het gebied van transgenese heeft de ontwikkeling van CRISPR-Cas, een eenvoudiger, nauwkeuriger techniek om genen in proefdieren als muizen, ratten en vissen gericht te veranderen, de mogelijkheden om hersenprocessen op moleculair niveau te bestuderen in levende dieren sterk vergroot. Onderzoek kan nu de bijdrage van individuele genen aan complexe hersenprocessen ontrafelen. Bovendien kunnen specifieke afwijkingen in genen die bij de mens bijdragen aan hersenziekten in diermodellen worden gereproduceerd.

Grote vooruitgang is ook geboekt bij methoden om de hersenen van proefdieren in beeld te brengen en hun activiteit tot op cellulair niveau te meten. Door middel van optogenetica¹⁰ kunnen hersencellen van buitenaf met lichtpulsen worden aan- en uitgeschakeld. (Om dit te bereiken schakelen onderzoekers genetisch gemodificeerde virussen in om hersencellen te voorzien van lichtgevoelige ionkanalen in de celmembraan.) Deze krachtige techniek maakt het mogelijk specifieke zenuwcellen te activeren of te remmen en cellulaire netwerken, gedragingen en ziekteprocessen specifiek te beïnvloeden. Dat heeft grote voordelen ten opzichte van bestaande farmacologische methoden, die doorgaans globaal op alle zenuwcellen inwerken en daardoor ook veel neveneffecten hebben.

De mogelijkheid om met zulke revolutionaire technieken veel nieuwe kennis te verzamelen heeft in recente jaren wereldwijd her en der tot een intensivering van dierproeven geleid.¹¹ Ook in Nederland wordt geïnvesteerd in de ontwikkeling van innovatieve technieken en betere diermodellen.

10 Deisseroth et al. 2006.

11 De bibliotheek van het Nederlands Herseninstituut deed een handmatige scan van de volledige jaargang 2018 van twee internationale neurowetenschappelijke toptijdschriften: *Nature Neuroscience* en *Neuron*. Ongeveer 85% van alle originele onderzoeksartikelen beschreef uitkomsten van dierproeven.

3.1 3V-beleid: vervanging, vermindering en verfijning van dierproeven

De afgelopen decennia is grote vooruitgang geboekt bij het zo veel mogelijk beperken van dierproeven in Nederland. Dat geldt ook voor de fundamentele neurowetenschappen.

Cruciaal daarin was de opkomst van het in 1959 ontwikkelde principe van de 3V's: Vervanging, Vermindering en Verfijning (internationaal bekend als de 3R's: *Replacement, Reduction, Refinement*¹²). Volgens dit principe streven onderzoekers, ook in de fundamentele neurowetenschappen, waar mogelijk naar (1) vervanging van dierproeven door dierproefvrije methoden, (2) vermindering van het aantal dieren per experiment voor zover methodologisch verantwoord en (3) verfijning van dierproeven, opdat proefdieren zo min mogelijk ongerief ondervinden.

De KNAW steunt dit 3V-beleid al vele jaren met overtuiging, zoals onder meer blijkt uit de Code Openheid Dierproeven, proefdierkundige verslagen die zij met regelmaat publiceert en diverse overheidsadviezen.¹³ Ook op de neurowetenschappelijke werkvloer in Nederland worden de 3V-principes onderschreven.

Zo wordt onder meer geïnvesteerd in grotere, beter uitgeruste proefdierverblijven en goede verzorging die proefdieren optimaal accommoderen – een van de redenen waarom de hoeveelheid ongerief voor proefdieren de afgelopen jaren is afgenomen.

Dierproeven worden bovendien veel efficiënter dan vroeger benut: uit één dierproef weten onderzoekers vandaag de dag gemiddeld veel meer informatie te destilleren dan voorheen, bijvoorbeeld doordat betere diermodellen zijn ontwikkeld of doordat gegevens uit één en dezelfde dierproef kunnen worden benut om meer dan één onderzoeksvraag te beantwoorden.

Goede toepassing van het 3V-principe kan overigens ingewikkelder zijn dan het op het eerste gezicht lijkt. Zo kan vermindering van het aantal proefdieren de statistische bewijskracht en wetenschappelijke waarde van een proef kleiner maken en dus de noodzaak van aanvullend of herhalingsonderzoek groter.¹⁴ Te sterke druk op vermindering van het aantal dierproeven kan dus averechts werken en per saldo leiden tot onnodig veel dierproeven – een onderwerp dat gerichte aandacht verdient.

12 Russell & Burch 1959.

13 Een overzicht van KNAW-standpunten, -adviezen, -verslagen en codes is te vinden op www.knaw.nl/nl/thematisch/ethiek/dierproeven.

14 Button et al. 2013, Carneiro et al. 2018.

De druk op ‘vervanging’ heeft ook een internationale dimensie. In Europa en de Verenigde Staten is het bewustzijn rond dierproeven ver ontwikkeld. Bij onze oosterburen bijvoorbeeld formuleerde een commissie van het Max-Planck-Gesellschaft drie jaar geleden een vierde ‘V’ : die van ‘Verantwoordelijkheid’ om expertise niet alleen in te zetten voor beter onderzoek, maar ook voor het welzijn van dieren.¹⁵ Er bestaat echter ook een reëel risico van nog een andere ‘V’: die van ‘Verplaatsing’ van dierproeven naar andere landen in Europa of opkomende onderzoekslanden, zoals China, waar beleid rond zorgvuldig en ethisch proefdiergebruik nog in de kinderschoenen staat.¹⁶ Ook dat zou het omgekeerde effect kunnen hebben van wat met ons 3V-beleid wordt beoogd.

3.2 Wet- en regelgeving voor de huidige praktijk

Nederlandse onderzoekers gebruiken alleen diermodellen als die noodzakelijk zijn om een belangrijke onderzoeksvraag te beantwoorden. Dat doen ze vanuit hun eigen motivatie, maar ook omdat de wet dat vereist.

De Nederlandse Wet op de Dierproeven, uitvloeisel van een EU-richtlijn,¹⁷ definieert sinds 2014 een dierproef als ‘elk al dan niet invasief gebruik van een dier voor experimentele of andere wetenschappelijke doeleinden, waarvan het resultaat bekend of onbekend is, of onderwijskundige doeleinden, die bij het dier evenveel of meer pijn, lijden, angst of blijvende schade kan veroorzaken als, dan wel dan het inbrengen van een naald volgens goed diergeneeskundig vakmanschap’.

Volgens het 3V-principe verbiedt de wet het doen van een dierproef met levende gewervelde dieren (inclusief foetale zoogdieren verder dan twee derde van het ontwikkelingsstadium) of koppotigen (zoals inktvissen en octopussen) als het doel ook kan worden bereikt zónder de dierproef, door een dierproef die minder dieren gebruikt of door een dierproef die dieren minder ongerief berokkent. Het belang van het doen van de dierproef moet bovendien ethisch opwegen tegen het ongerief dat het proefdier wordt berokkend.

Een instelling die dierproeven doet, moet daarvoor een algemene vergunning hebben. De Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA) houdt algemeen toezicht op zulke vergunninghouders, onder andere door middel van aangekondigde en onaangekondigde inspectiebezoeken.

15 Max-Planck-Gesellschaft 2016.

16 McLaughlin 2016.

17 Richtlijn 2010/63/EU: *Legislation for the protection of animals used for scientific purposes.*

Elk afzonderlijk onderzoeksproject waarvan dierproeven deel (kunnen) uitmaken, vereist daarnaast een projectvergunning. Wanneer proefdieren voor een onderzoeksproject noodzakelijk worden geacht, wordt in overleg met de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD) van de eigen instelling een aanvraag voor een projectvergunning ingediend bij de landelijk opererende Centrale Commissie Dierproeven (CCD).

De CCD weegt af of het belang van het onderzoeksdoel opweegt tegen het vermoedelijke ongerief bij proefdieren en vraagt bij die afweging advies van een Dierexperimentencommissie (DEC). Als de ethische toets positief uitvalt, geeft de CCD een projectvergunning voor maximaal vijf jaar.

Voordat de dierproef daadwerkelijk mag beginnen, moet de onderzoeker een gedetailleerd werkplan opstellen, met onder meer een onderbouwing van het op grond van het 3V-principe benodigde aantal dieren en een schatting van het cumulatieve ongerief. De lokale IvD moet dat werkplan goedkeuren. Na afloop van de proef wordt het totale ongerief vastgesteld en wordt de proef geregistreerd bij de NVWA.

In de dagelijkse praktijk gaan Nederlandse neurowetenschappers dus al met veel zorg, kunde en terughoudendheid met dierproeven om. Binnen grondige regels en procedures zetten ze alleen een dierproef in als het niet anders kan, al was het maar om de hoge kosten en aanzienlijke administratieve inspanningen van dierproeven zo veel mogelijk te vermijden. Als dierproeven worden ingezet, dan gebruiken ze zo weinig mogelijk dieren, veroorzaken ze zo weinig mogelijk ongerief en laten ze elke dierproef ethisch toetsen. Volgens de 3V-principes zoeken ze steeds een optimale mix van experimentele benaderingen en (al of niet nieuwe) methoden en technieken.¹⁸

3.3 Dierproeven in fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek

De registratie van dierproeven in Nederland volgt EU-uitvoeringsrichtlijnen.¹⁹ Vergunninghouders rapporteren jaarlijks hun dierproeven aan de NVWA. Ze kunnen bij die registratie kiezen uit acht doelen, waaronder 'Krachtens wetgeving vereiste toxiciteits- en veiligheidstesten', 'Toegepast en omzettingsgericht onderzoek' en 'Fundamenteel wetenschappelijk onderzoek'.

18 MacArthur Clark 2018.

19 2014/11/EU, 2012/707/EU. *A common format for submitting information on the use of animals for scientific purposes.*

In 2017, het meest recente jaar waarvoor de NVWA cijfers heeft gerapporteerd,²⁰ werden voor het doel ‘fundamenteel wetenschappelijk onderzoek’ 199.245 dierproeven geregistreerd, ruim 50% meer dan in 2016. (Omdat één dier soms voor meerdere proeven wordt gebruikt, ligt het aantal proefdieren lager.)

De NVWA-registratie bevat geen cijfers over specifiek de neurowetenschappen. Rapportages van de CCD over verleende projectvergunningen geven daarvoor wel enige indicaties. (De projectvergunningen bevatten schattingen van het aantal dieren dat *maximaal* nodig kan zijn, dus overschatten waarschijnlijk het feitelijke aantal ingezette dieren.)

Tussen juni 2015 en maart 2018 werden in totaal 144 verleende projectvergunningen met een neurowetenschappelijk onderwerp gevonden.²¹ Hiervan dienden volgens de aanvragers 134 (93%) (mede) een fundamenteel wetenschappelijk doel. (Veel projecten dienden meerdere doelen: 40% droeg bij aan translationeel of toegepast onderzoek, 3% aan fokprogramma’s, 1% aan onderwijs en 1% aan wettelijk verplicht onderzoek.) Een getalsmatige trend kan uit deze cijfers niet worden afgeleid.

Het overgrote deel van de in de vergunning genoemde dieren betrof muizen (72%), ratten (17%) en vissen (10%). De laatste 1% omvatte zoogdiersoorten zoals fret, gerbil, cavia, konijn, tupaia, chinchilla, varken en resusaap en vogelsoorten zoals kauw, spreeuw, rotgans en brandgans.

Al deze dierproeven volgden de wettelijke 3V-criteria.

20 NVWA 2019.

21 Niet-technische samenvattingen geraadpleegd via www.centralecommissiedierproeven.nl/documenten.

4. ONTWIKKELINGEN MET POTENTIE VOOR 3V-BELEID

In de laatste decennia zijn uiteenlopende nieuwe technieken en initiatieven ontwikkeld die potentie hebben om, met toepassing van het 3V-principe, fundamenteel neurowetenschappelijke onderzoeksvragen voor een deel te beantwoorden met minder of verder verfijnde dierproeven. (Dit met oog voor het besef dat voor het beantwoorden van verreweg de meeste actuele onderzoeksvragen dierproeven nog steeds ook noodzakelijk zullen zijn.)

Dit hoofdstuk volgt voor een belangrijk deel de verkenning²² van de commissie-Bijker en beschrijft enkele van deze ontwikkelingen.

6. iPSC-technologie, organoïden en organs-on-chips;
7. niet-invasief onderzoek bij de mens;
8. hergebruik van (big) data en lichaamsmateriaal;
9. digitale modellen;
10. invasief onderzoek bij de mens.

Voor elk van deze ontwikkelingen wordt aangegeven hoe ze mogelijk kunnen helpen onderzoeksvragen in het vakgebied (gedeeltelijk) te beantwoorden en wat mogelijke beperkingen daarbij zijn. In een aantal gevallen worden perspectieven geformuleerd voor de toekomstige ontwikkeling van methoden in de komende jaren.

22 Commissie-Bijker 2019.

4.1 iPSC-technologie, organoïden en organs-on-chips

Lange tijd waren pluripotente stamcellen alleen te verkrijgen uit embryonaal materiaal. In 2006 liet baanbrekend onderzoek uit het lab van Shinya Yamanaka²³ echter zien dat ook volwassen cellen ‘teruggezet’ kunnen worden in een meer embryonale staat, waardoor ze zich weer oneindig kunnen delen en zich kunnen specialiseren tot bijna elk soort lichaamscel. Het zijn *induced pluripotent stem cells*, of iPSC's. Ze zijn nauwelijks te onderscheiden van embryonale stamcellen. De ontdekking en ontwikkeling van iPSC's heeft het mogelijk gemaakt om één menselijke lichaamscel zich te laten ontwikkelen tot complexe celkweken met diverse typen (hersens)cellen of, één stap verder, organoïden.

Organoïden zijn driedimensionale celstructuren die ontstaan door het vermeerderen en differentiëren (specialiseren) van stamcellen en enige vorm van zelforganisatie vertonen. In Nederland deden Hans Clevers en collega's bij het Hubrecht Instituut baanbrekende ontdekkingen op het gebied van organoïden afkomstig van epitheelcellen uit volwassen organen.²⁴ Uit iPSC's opgekweekte organoïden kunnen worden beschouwd als geminiaturiseerde en sterk gesimplificeerde 'in-vitro-organen' met een soms realistische driedimensionale microanatomie.

Celkweken en organoïden zijn in theorie interessante modellen voor fundamenteel onderzoek naar cellulaire en moleculaire aspecten van de menselijke hersenen, bijvoorbeeld tijdens de embryonale ontwikkeling of bij bepaalde ziekteprocessen. Mogelijk bieden ze in de toekomst opties om onderzoek te doen op levend, zich ontwikkelend menselijk (patiënten)materiaal. Patiëntendiversiteit zou mogelijk op cellulair niveau kunnen worden bestudeerd, want iPSC's kunnen in principe worden geïnduceerd in lichaamscellen van elke afzonderlijke patiënt.

Een enigszins verwante ontwikkeling is die van 'organs-on-chips', waarin computerchipprouductietechnieken worden gebruikt om minuscule *devices* te construeren waarin uiteenlopende typen levende cellen via extreem geminiaturiseerde reservoirs en kanalen worden gevoed. Met een gereguleerde vloeistofstroom kunnen (groeif) factoren aan cellen worden toegediend. Zo kunnen celinteracties worden nagebootst die naar verwachting in het menselijk lichaam plaatsvinden.

iPSC's, organoïden en 'organs-on-chips' zijn nog jonge technologieën en ze moeten hun precieze waarde voor de praktijk van fundamenteel onderzoek nog bewijzen. Zeker is wel dat ze een interessante aanvulling zijn op neurowetenschappelijk onderzoek aan diermodellen, met name bij onderzoeksvragen op het niveau van cellen en cellulaire circuits.

23 Takahashi & Yamanaka 2006.

24 Barker et al. (2010).

Voorbeelden van toepassingsmogelijkheden zijn ziektemechanismen die zich in een enkele cel manifesteren en het identificeren van cellulaire aangrijpingspunten voor potentiële medicijnen.

Ontwikkelingen op het gebied van iPSC's, organoïden en organs-on-chips

Een aantal ontwikkelingen is voor de ontwikkeling en verspreiding van deze technologieën van belang:

Standaardisatie, uitwisseling en verspreiding van kennis en expertise

Met organoïden en iPSC-technologie kan men in theorie een gecontroleerde kunstmatige omgeving creëren waarin men (althans binnen de organoïde) veel parameters in de hand heeft. Dit kan leiden tot betrouwbare en goed reproduceerbare onderzoeksresultaten. Op dit moment verschillen de werkwijzen en protocollen voor het maken van celkweken en organoïden echter nog van laboratorium tot laboratorium. Standaardisatie is een belangrijke randvoorwaarde om de waarde van organoïden en iPSC-technologie voor fundamenteel onderzoek te vergroten.

Bij de verdere ontwikkeling van de technologie zijn samenwerking, coördinatie en kennisuitwisseling op nationale en Europese schaal van belang. Expertisecentra kunnen aan een bredere groep van onderzoekers gedifferentieerde cellen leveren volgens gestandaardiseerde protocollen, zodat experimenten optimaal reproduceerbaar zijn. In Nederland kan bijvoorbeeld het Hubrecht Instituut daarbij een rol spelen. In Europa bestaat mede voor dit doel een centrale database, de *Human Pluripotent Stem Cell Registry*.²⁵

Vertaling van model naar menselijke hersenen

Hoewel organoïden en 'organs-on-chips' als modellen nog ver af staan van de complexe werkelijkheid van menselijke hersenen, kunnen de mogelijkheden zich de komende jaren mogelijk nog wel uitbreiden. Zo is er al een 'organ chip' die de bloed-hersenbarrière, de scheiding tussen de bloedsomloop en het extracellulaire vocht in de hersenen, enigszins kan nabootsen.²⁶ Ook in humane organoïden die waren geïmplanteerd in muizenhersenen is de eerste rudimentaire bloed-hersenbarrière nagebootst.²⁷ Als zulke ontwikkelingen het komende decennium doorzetten, zou dat opties om cellulaire modellen te vertalen naar complete hersenen kunnen vergroten.

25 <https://hpscreg.eu>.

26 Van der Helm et al. 2016.

27 Cho et al. 2017, Nzou et al. 2018.

Matureren van organoïden

Met de huidige technieken kunnen organoïden worden gekweekt tot een ontwikkelingsstadium dat op cellulair niveau gelijkenissen vertoont met embryonale of foetale menselijke hersenen. Verder gematureerde organoïden worden nog niet gebruikt, voor een deel omdat veel tijd, ruimte en geld nodig is om een organoïde lang in kweek te houden met de juiste voeding en groeifactoren. Ook kan de natuurlijke biologische omgeving (bloedvaten, 3D-structuren) in organoïden nog maar beperkt worden nagebootst. Op dit moment moet een organoïde getransplanteerd worden in muizenhersenen om zich verder dan een embryonaal stadium te kunnen ontwikkelen.²⁸ De komende tien jaar kan het mogelijk blijken om in vitro organoïden te kweken die wellicht meer overeenkomsten vertonen met volwassen menselijke hersenontwikkelingsstadia.

Inherente beperkingen

Zoals ieder modelsysteem kennen ook iPSC's, organoïden en 'organs-on-chips' belangrijke beperkingen.

Anders dan hun naam misschien kan doen vermoeden, zijn organoïden geen complete kleine organen. De tot nu toe gekweekte hersen-organoïden vertonen op cellulair niveau weliswaar overeenkomsten met menselijke hersenen tijdens hun biologische ontwikkeling, maar dat maakt ze nog niet tot mini-hersenen. De celarchitectuur is vaak niet natuurgetrouw en ze bevatten geen bindweefselcomponenten, essentiële onderdelen van hersenen. Ze vertonen geen hersenfuncties, ook niet op cellulair niveau en inkomende en uitgaande verbindingen en signalen zijn afwezig.

Organoïden zijn, met andere woorden, sterk vereenvoudigde modellen voor weefsels in specifieke hersengebieden zoals de cortex, de hippocampus of het cerebellum.²⁹ In onderzoek met organoïden ontbreekt interactie met andere hersendelen, andere organen en de bredere omgeving. Ze kunnen geen antwoord geven op onderzoeksvragen die samenhangen met hogere biologische niveaus, zoals hersenfuncties en -interacties, organismen en gedrag. Ze kunnen onderzoek naar complete hersenen en organismen mogelijk aanvullen, maar niet vervangen. Voor de beantwoording van de complexere, 'grote' vragen in de neurowetenschappen, zoals verzameld in bijlage 1, zullen ze niet toereikend zijn.

In welke mate hersen-organoïden of 'organs-on-chips' in de toekomst dierproeven kunnen vervangen bij het testen van stoffen op veiligheid en werkzaamheid bij de mens, is op dit moment nog een open vraag. Veel fundamenteel onderzoek, ook aan

28 Mansour et al. 2018.

29 Di Lullo & Kriegstein 2017.

diermodellen, zal de komende jaren nodig zijn om die vraag te beantwoorden en om te kunnen vaststellen of en hoe effecten van stoffen in organoïden kunnen worden vertaald naar complete organismen zoals de mens. Directe vergelijkingen tussen de uitkomsten van dierproeven en modelsystemen zijn pas net begonnen.

De kweek van organoïden en cellijnen vraagt ook om dierlijk materiaal. Dat relativeert de mogelijkheden van deze modellen om het gebruik van proefdieren te verminderen.

Naarmate de complexiteit en het ontwikkelingsstadium van hersen-organoïden verder toenemen, kunnen ook ethische vragen opkomen rond het in proefdieren kweken van ver ontwikkelde netwerken van hersencellen die zijn afgeleid van menselijke patiënten.

PERSPECTIEVEN VOOR DE KOMENDE TIEN JAAR

- De voortgaande ontwikkeling van iPSC's, organoïden en organs-on-chips zal het komende decennium de opties om cellulaire modellen te vertalen naar menselijke hersenen mogelijk kunnen vergroten. Wellicht zal het mogelijk blijken om in vitro organoïden te kweken die meer overeenkomsten vertonen met volwassen menselijke hersenontwikkelingsstadia.
- Fundamenteel onderzoek kan meer duidelijkheid geven over de vraag in hoeverre hersen-organoïden en 'organs-on-chips' in de toekomst dierproeven kunnen vervangen bij het testen van stoffen op veiligheid en werkzaamheid bij de mens.

4.2 Niet-invasief onderzoek bij de mens

Onder niet-invasieve meetmethoden worden methoden verstaan die niet ingrijpend zijn of langdurig negatief invloed hebben op een proefpersoon. Deze technologieën bieden mogelijkheden voor laagdrempelig onderzoek aan menselijke proefpersonen.

Ontwikkelingen op het gebied van niet-invasieve humane meetmethoden

De belangrijkste ontwikkelingen op het gebied van niet-invasieve meetmethoden zijn die in *beeldvormend onderzoek*, *experience sampling* en *virtual reality*. Ze bieden unieke mogelijkheden voor onderzoek aan proefpersonen. Ze kunnen, meestal in combinatie met andere methoden, vragen beantwoorden over de interactie van de hersenen met andere delen van het lichaam of de omgeving. Recente en toekomstige ontwikkelingen rond deze technieken zijn:

Beeldvormend onderzoek

Er zijn al veel verschillende technieken om de hersenen in beeld te brengen, zoals *functional* en *structural* en *functional magnetic resonance imaging* (MRI en fMRI), *functional ultrasound brain imaging* (fUS), *functional near-infrared spectroscopy* (fNIRS), elektro-encefalografie (EEG) en magneto-encefalografie (MEG), *single photon emission computed tomography* (SPECT) en positronemissietomografie (PET). Elk van deze technieken heeft eigen toepassingen en beperkingen. Hun kracht is dat ze het mogelijk maken levende menselijke hersenen voor een groot deel en in actie te bestuderen.

De belangrijkste parameters van beeldvormende technieken zijn hun spatiële en temporele resolutie: hoe klein en hoe snel gemeten kan worden. De huidige technieken kunnen hersengebieden onderscheiden die nog steeds uit miljoenen cellen bestaan. Dat maakt ze vooral geschikt om correlaties te meten tussen de activiteit van hersengebieden en uiteenlopend gedrag.

Van de niet-invasieve technieken die het levende humane brein in beeld kunnen brengen, hebben MRI en fUS de hoogste spatiële resolutie.

Voor fMRI bij mensen werden in de afgelopen jaren al scanners met steeds sterkere magneten gebruikt, van 1,5 tot 9 tesla. Technologische doorbraken brengen nu scanners met een veldsterkte van 14 tesla en hoger in zicht.³⁰ Die zouden nog hogere spatiële resoluties bieden en verbeterde mogelijkheden voor het meten van neurotransmitters zoals glutamaat en GABA. Ze zouden nauwkeuriger waarnemingen mogelijk maken aan afzonderlijke lagen van de hersenschors.

Functional ultrasound kan geen specifieke neurotransmitters waarnemen zoals fMRI dat kan, maar kan wel hogere temporele resoluties bereiken en dieper gelegen weefsellagen in beeld brengen. Het kan bovendien worden toegepast in mobiele situaties van de proefpersoon, is relatief goedkoop en kan gecombineerd worden met ultrasoundstimulatie van specifieke hersenkernen.³¹

In Nederland neemt de capaciteit op het gebied van beeldvormend onderzoek toe; ons land beschikt over een hoge concentratie van universiteiten, medische centra en imaging-centra met specifieke expertises op neurologisch gebied. Samenwerking op nationaal en EU-niveau³² maakt het waarschijnlijk mogelijk om het komende decennium zaken als hersenstructuur, -activiteit en -connectiviteit op populatieniveau te bestuderen.

30 Budinger et al. 2016.

31 Deffieux et al. 2018.

32 www.nextgenvis.eu/partners.

Voor vragen met betrekking tot het motorsysteem of gedrag buiten het laboratorium bestaan al mogelijkheden om neuronale activiteit te meten bij mobiele proefpersonen, maar ze worden nog weinig gebruikt. Naast fUS biedt ook fNIRS op dit gebied interessante mogelijkheden.³³ Het is een technologie waarbij de hersenschors met infrarood licht wordt bestraald. De techniek is veilig, redelijk betaalbaar, draagbaar, kan draadloos worden gebruikt en kan gecombineerd worden met *experience sampling of virtual reality* (zie hierna). De lage spatiële resolutie van fNIRS kan mogelijk nog iets worden verbeterd. Of herhaalde toepassing van fNIRS bij proefpersonen om veranderingen in hersenprocessen te volgen praktische meerwaarde zal hebben ten opzichte van andere technieken is onzeker.

Draagbare elektronica als aanvulling op experience sampling

Experience sampling is een techniek voor intensieve dataverzameling bij proefpersonen. Deelnemers vullen op meerdere momenten per dag vragenlijsten in, meestal gedurende meerdere dagen.³⁴ De methode is vooral bruikbaar bij onderzoek naar psychische symptomen in relatie tot gebeurtenissen in het dagelijks leven. Dit kan leiden tot beter begrip van die symptomen, meer kennis over oorzaak-gevolgrelaties en variatie daarin van individu tot individu, en meer inzicht in de effectiviteit van interventies of therapieën.

Experience sampling wordt al decennia gebruikt,³⁵ maar dankzij ontwikkelingen in draagbare elektronica zullen subjectieve data uit vragenlijsten steeds meer kunnen worden aangevuld met objectieve data over bijvoorbeeld hartslag, activiteit en locatie. Dit kan de validiteit en reproduceerbaarheid van de methode vergroten.

De ontwikkelingen op het gebied van draagbare elektronica gaan snel.³⁶ De komende jaren zullen waarschijnlijk nieuwe producten verschijnen die fysiologische parameters zoals hartslag, motorische activiteit, EEG, ECG, huidtemperatuur, slaapfase, oogbewegingen en dergelijke betrouwbaar en langdurig kunnen monitoren. Ook zullen meer technieken ontstaan om input van sociale media aan datasets toe te voegen. Dankzij ontwikkelingen in *data science* zullen meer mogelijkheden ontstaan om uit de nieuwe veelheid aan gegevens bruikbare informatie te destilleren.

Virtual en augmented Reality

In *virtual-reality*systemen worden illusies gecreëerd die in meer of mindere mate

33 Bunce et al. 2006.

34 Bolger & Laurenceau 2013.

35 Csikszentmihalyi et al. 1977.

36 Byrom et al. 2018.

natuurlijke gebeurtenissen en sociale interacties simuleren.³⁷ Dat maakt experimenten mogelijk waarbij proefpersonen worden geplaatst in specifieke complexe, dynamische, quasirealistische en nauwkeurig gecontroleerde omgevingen.³⁸ Combinaties met bijvoorbeeld beeldvormend onderzoek geven mogelijkheden om tijdens hetzelfde experiment hersenactiviteit in beeld te brengen.

Een variatie op *virtual reality* is *augmented reality*, waarin de proefpersoon een variant van de echte wereld waarneemt waaraan digitale elementen zijn toegevoegd (bijvoorbeeld door middel van een bril met een ingebouwd scherm).

Inherente beperkingen

Niet-invasieve onderzoeksmethoden bij de mens hebben naast groeiende mogelijkheden ook beperkingen. Zo kunnen niet-invasieve technieken moeilijk doordringen tot het niveau van moleculen en cellen. Ook kan het vaak geen causale relaties aantonen tussen bijvoorbeeld hersenstructuren, hersenfuncties en gedrag. Wel kan het correlaties opsporen die kunnen dienen als hypothesen voor causaal onderzoek, bijvoorbeeld door middel van invasief onderzoek aan diermodellen.

Ook de meeste geavanceerde beeldvormende technieken zijn nog ver verwijderd van metingen op het niveau van individuele cellen. Voor onderzoek dat zich uitstrekt naar het cellulaire niveau blijven dus combinaties nodig met invasieve methoden, zoals het biochemisch 'labelen' van cellen. Dat kan op dit moment alleen nog *ex vivo* aan menselijke weefselbiopten,³⁹ in dierproeven of, met beperkte resolutie, bij mensen met SPECT- en PET-scans.

Ook de temporele resolutie van beeldvormende technieken vormt een belangrijke beperking. Zo neemt het meten van een MRI-sigitaal of fUS meer tijd in beslag dan het zenuwcellen kost om een signaal af te vuren. Ook dat is een reden waarom deze beeldvormende technieken invasief onderzoek aan diermodellen niet kunnen vervangen.

Voor hoog-veld-MRI met magneten met een veldsterkte van 14-20 tesla is nog veel technologische ontwikkeling nodig. Of de methode veilig zal zijn voor onderzoek aan mensen, zal moeten worden aangetoond met dierproeven. Hoge investeringskosten zullen toepassing van de techniek waarschijnlijk beperken tot enkele gespecialiseerde centra.⁴⁰

37 Bohil et al. 2011.

38 Park et al. 2018.

39 Shen et al. 2018.

40 Bijvoorbeeld het Spinoza Centrum, Maastricht Brain Imaging Centre, het Donders Centre for Cognitive Neuroimaging, het UMC Utrecht Center for Image Sciences en het C.J. Gorter Center for High Field MRI.

Er is *proof of principle* dat fUS ook in 3D en niet-invasief gebruikt kan worden,⁴¹ maar of de methode geschikt kan worden voor routinegebruik bij mensen hangt mede af van de ontwikkeling van hard- en software, met name omdat iedere schedel uniek is en om een andere decodering van signalen vraagt. Of fUS veilig is om hersengebieden bij mensen te stimuleren, zal met dierproeven nog beter moeten worden onderzocht.

fnIRS, gebaseerd op infraroodstraling, is geschikt voor mobiele toepassing, maar heeft een zeer lage spatiële resolutie en kan hooguit enkele centimeters diep in de hersenen doordringen. Dieper gelegen hersengebieden zullen dus niet zichtbaar kunnen worden gemaakt.

De bruikbaarheid van elektronische monitoring voor fundamenteel onderzoek zal zich de komende jaren in de praktijk nog moeten bewijzen. En net als onderzoek met behulp van *virtual* en *augmented reality* is het van beperkte betekenis voor vragen op niveaus onder dat van het organisme. Om *virtual* en *augmented reality* te kunnen toepassen, zullen virtuele omgevingen nodig zijn met voldoende levensechte sensorische illusies. De kosten voor zulke systemen zijn nu nog hoog,⁴² maar zouden kunnen dalen als de consumentenmarkt voor *virtual reality* groeit.

PERSPECTIEVEN VOOR DE KOMENDE TIEN JAAR:

- Fundamenteel onderzoek kan meer duidelijkheid geven over de vraag in hoeverre innovatieve niet-invasieve beeldvormende technieken belangrijke neurowetenschappelijke onderzoeksvragen kunnen beantwoorden.
- Samenwerking op nationaal en EU-niveau zal het waarschijnlijk mogelijk maken om vragen over hersenstructuur, -activiteit en -connectiviteit met beeldvormende technieken bij de mens op populatieniveau te bestuderen.
- Onderzoeksmogelijkheden met gevalideerde, ergonomische en gebruiksvriendelijke draagbare elektronica voor continuonderzoek bij patiënten en gezonde proefpersonen zullen waarschijnlijk toenemen.
- De lage spatiële resolutie van fnIRS-technologie kan mogelijk nog iets worden verbeterd. Onderzoek zal de praktische meerwaarde van herhaalde toepassing van fnIRS bij proefpersonen ten opzichte van andere technieken moeten aantonen.
- De veiligheid van fnIRS en fUS bij toepassing op mensen zal onder meer door middel van dierproeven moeten worden aangetoond.
- De kosten voor *virtual- en augmented-reality*systemen zouden kunnen dalen wanneer de consumentenmarkt voor vergelijkbare technologie groeit.

41 Kruizinga et al. 2017.

42 Bohil et al. 2011.

4.3 (Her)gebruik van (big) data en lichaamsmateriaal

In neurowetenschappelijk onderzoek worden grote hoeveelheden data gecreëerd en menselijk en dierlijk lichaamsmateriaal verzameld. Als ze op een goede manier worden bewaard en toegankelijk gemaakt, kan een experiment ook naderhand nog betekenisvolle wetenschappelijke informatie genereren. Bredere datatoegang geeft ook aanvullende mogelijkheden voor onderzoek dat verschillende biologische niveaus integreert, omdat dezelfde data of hetzelfde lichaamsmateriaal soms met verschillende methoden zullen kunnen worden geanalyseerd. Met toegang tot eerder verzamelde data of materiaal kunnen eerder behaalde onderzoeksresultaten beter worden geverifieerd en in theorie zelfs gebruikt om nieuwe onderzoeksvragen te beantwoorden.

Om allerlei organisatorische, juridische, economische en wetenschappelijke redenen is brede toegang tot bestaande data en materiaal vaak nog beperkt mogelijk. Wel zijn initiatieven in gang gezet die het openstellen en uitwisselen van data en ander onderzoeksmateriaal bevorderen, zoals *Open Science* en *Open Data*.

Ontwikkelingen rond (her)gebruik van (big) data

Voor het delen van (big) data is internationaal de 'FAIR'-standaard voor het verzamelen, opslaan en toegankelijk maken van data geïntroduceerd: Findable, Accessible, Interoperable en Reusable.

In de neurowetenschappen is inmiddels een groeiend aantal datasets beschikbaar op websites zoals *Collaborative Research in Computational Neuroscience*,⁴³ *NeuroMorpho*⁴⁴ en het *Allen Institute*⁴⁵. De neuropsychologie kent specifieke open-science-initiatieven⁴⁶ en platforms voor het delen van open computercodes voor onderzoeksdoeleinden.⁴⁷ De *Neuroimaging Tools and Research Collaboration* probeert een portal te creëren waar alle data van beeldvormend onderzoek in de neurowetenschappen gebundeld kunnen worden. Binnen het Europese *Human Brain Project* (HBP) wordt een neuro-informaticsplatform ontwikkeld waarop alle binnen het project verzamelde data na een embargoperiode publiek toegankelijk worden.

Internationale samenwerking en heldere standaarden voor data- en metadataopslag en -publicatie bevorderen de (her)bruikbaarheid en uitwisselbaarheid van data, maar nog niet alle internationale consortia en initiatieven werken optimaal samen.

43 crcns.org.

44 neuromorpho.org.

45 portal.brain-map.org.

46 Bijv. osf.io/institutions/cos, wellcomeopenresearch.org en manybabies.stanford.edu.

47 Bijvoorbeeld rescience.github.io.

De EU, de Nederlandse overheid, de meeste publieke onderzoeksfinanciers en de KNAW omarmen inmiddels principes van *Open Science* en *Open Data*. Het financieringsprogramma *Meer Kennis met Minder Dieren* van ZonMw omvat een module voor initiatieven op het gebied van *Open Science* in diergebonden onderzoek. Aandachtspunten daarbij zijn het *open access* publiceren van alle resultaten, het vollediger rapporteren van dierexperimentele data met gebruikmaking van rapportagerichtlijnen en het doen van systematisch literatuuronderzoek.⁴⁸ Door de verzameling en opslag van ruwe data van dierproeven zo veel mogelijk te standaardiseren en die data vrij toegankelijk te maken voor academisch onderzoek kunnen de impact en het wetenschappelijk rendement van dierproeven worden vergroot. Ook ruwe data van niet-gepubliceerd of niet te publiceren onderzoek moeten toegankelijk en vindbaar worden. Dit vereist wel een infrastructuur en middelen om die infrastructuur te ontwikkelen. De neurowetenschappen kunnen nauw op deze initiatieven aansluiten.

De KNAW heeft recent de commissie 'Opslag en beschikbaarheid van data voor onderzoek' ingesteld.⁴⁹ Deze moet meer helderheid en structuur brengen in de discussie rondom het verbeteren van de opslag en beschikbaarheid van data voor onderzoek. De KNAW vindt dat Nederland een voortrekkersrol moet spelen in de internationale ontwikkeling naar het beter beschikbaar maken van data voor hergebruik en wil vanuit het perspectief van onderzoekers bijdragen aan internationale initiatieven zoals de *European Open Science Cloud*.

Synthesis of evidence

Synthesis of evidence (SoE) kan kennis uit en over eerdere dierproeven integreren, analyseren en gebruiken om de effectiviteit en de efficiëntie van nieuwe dierproeven te verhogen. Het kan zorgen voor betere onderzoeksvragen, relevanter en beter opgezette dierproeven en zo de bewijskracht van dierproeven vergroten. Op die manier kan meer wetenschappelijk rendement worden gehaald uit oud én toekomstig dierexperimenteel onderzoek.

SoE vraagt ook om gericht onderzoek naar de effectiviteit van bestaande onderzoeksmethoden en diermodellen voor fundamenteel onderzoek rond menselijke hersenen en menselijk gedrag. Dat vereist meer aandacht voor het goed documenteren van dierexperimenteel onderzoek. Vaak blijken cruciale parameters over de gebruikte methodologie in de verslaglegging te ontbreken, wat de (her)bruikbaarheid van de data ernstig beperkt.

48 ZonMw-programma *Meer Kennis met Minder Dieren*, programmatekst 2018-2020.

49 Instellingsbesluit Commissie Opslag en beschikbaarheid van data voor onderzoek, februari 2019.

In 2016 publiceerde het NCad een pleidooi⁵⁰ voor bredere toepassing van gedocumenteerde SoE's in de opzet van onderzoeksprojecten waarin het gebruik van proefdieren wordt overwogen en voor het creëren en onderhouden van relevante databases over de toepasbaarheid van diermodellen. Het NCad bepleitte ook incentives voor onderzoekers voor het publiceren van 'negatieve' resultaten en replicaties van eerdere studies.

Het ZonMw-programma *Meer Kennis met Minder Dieren* bevat een module *Kennisinfrastructuur*, opgezet om de *Synthesis of Evidence* voor dierexperimenteel onderzoek en het *open access* publiceren van solide negatieve of neutrale dierexperimentele resultaten te stimuleren. De module financiert onder meer *systematic review workshops* en het aanvragen van grotere subsidies op het terrein van proefdierarme innovaties.

In recente jaren is al veel gebeurd om het gebruik en hergebruik van data uit dierexperimenteel onderzoek te verbeteren. Zo is, naar analogie van publieke preregistraties van klinische trials, een systeem opgezet voor publieke preregistratie van dierproeven met een volledig onderzoeksprotocol en data-analyseplan.⁵¹ Het Nederlandse *Systematic Review Center for Laboratory animal Experimentation*⁵² is internationaal toonaangevend op het terrein van systematic reviews. Samenwerking met onderzoekers in de (humane) klinische epidemiologie en de *Cochrane collaboration*⁵³ zou de ontwikkeling van zulke reviews kunnen versterken.

Ontwikkelingen rond (her)gebruik van lichaamsmateriaal

In Nederland verzamelt de Nederlandse Hersenbank hersenweefsel van overleden personen die zich bij leven als hersendonor hebben geregistreerd. De Hersenbank stelt dit hersenweefsel, samen met neuropathologische documentatie, beschikbaar aan wetenschappers over de hele wereld. Een deel van het opgeslagen materiaal betreft post mortem hersenweefsel van patiënten die bij leven deelnamen aan klinisch onderzoek, waaruit ook gegevens beschikbaar zijn. De combinatie van weefsel en klinische data geeft unieke kansen voor humaan hersenonderzoek.

De laatste jaren verzamelt de Hersenbank ook huidcellen, gericht op de ontwikkeling van complexe celkweken en organoïden. Dat zal de komende jaren onderzoek mogelijk maken waarin post mortem materiaal, klinische data én organoïden van

50 NCad 2016b.

51 Zie bijvoorbeeld www.preclinicaltrials.eu.

52 www.radboudumc.nl/en/research/departments/health-evidence/systematic-review-centerfor-laboratory-animal-experimentation.

53 <https://netherlands.cochrane.org>.

één en dezelfde patiënt bestudeerd kunnen worden. De combinatie van post mortem materiaal met andere methoden, zoals beeldvormende technieken en dierproeven, zal het mogelijk maken om ontwikkelingen en experimenten over langere tijd te koppelen aan waarnemingen aan humaan hersenweefsel.

De Hersenbank verzorgt ook post mortem diagnostiek op hersenweefsel. Dat stelt artsen in staat om na het overlijden van patiënten diagnoses achteraf te toetsen en zo het diagnostisch proces te verbeteren. Post mortem diagnostiek kan ook bijdragen aan fundamenteel onderzoek, doordat het informatie geeft over hersenziekten in verschillende stadia van ontwikkeling.

Nederlandse umc's hebben al toegang tot veel (patiënt)cohorten bij wie een schat aan informatie en materiaal wordt verzameld in het kader van klinisch onderzoek. Deze data en dit materiaal zijn nu vaak niet vrij te gebruiken, tenzij deelnemers daarvoor vooraf expliciet toestemming hebben gegeven.

Formele of meer intensieve samenwerking tussen de Hersenbank en umc's met een afdeling (neuro)pathologie zou het gebruik van humaan patiëntenmateriaal en organoïden voor fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek kunnen verruimen. Zo zou meer post mortem patiëntenmateriaal in combinatie met klinische data en beeldmateriaal beschikbaar kunnen komen. Korte afstanden in Nederland maken het mogelijk post mortem weefsel na verzameling op een umc snel en op de juiste wijze bij de Hersenbank op te slaan.

Inherente beperkingen

Ook hergebruik van data en lichaamsmateriaal kent beperkingen.

Hoewel principes als *Open Science*, *Open Data* en *Open Access* inmiddels breed worden gesteund, bestaan er in de praktijk nog veel barrières. Het ZonMw-programma *Meer Kennis met Minder Dieren* is bijvoorbeeld administratief belastend en werkt voornamelijk op basis van subsidieaanvragen. Automatisch toewijzen van subsidie voor *open access charges* bij publicatie van dierproefonderzoek zou de efficiëntie kunnen verhogen.

In Nederland onderzoekt het *Nationaal Platform Open Science* ook andere drempels voor publicatie van bijvoorbeeld ruwe en methodologische data. Wetenschappers merken in dat onderzoek op dat tegenover hoge kosten van het toegankelijk maken (in tijd en geld) weinig opbrengsten (in waardering en beloning) staan.

Omdat data en/of lichaamsmateriaal vaak zijn verzameld met het oog op een specifieke onderzoeksvraag, zullen voor het beantwoorden van andere onderzoeksvragen

in de praktijk vaak belangrijke parameters ontbreken. Ook kunnen de kwaliteit en de context van eerder verzamelde collecties, data of lichaamsmateriaal niet altijd voldoende worden geverifieerd. Oorzakelijke verbanden kunnen uit eerder verzamelde data en lichaamsmateriaal doorgaans niet worden aangetoond.

Onderzoek aan afgenomen lichaamsmateriaal geeft momentopnamen. Dat maakt het in de praktijk beperkt bruikbaar voor vragen over ontwikkelingen in de tijd, interacties met andere delen van het lichaam of oorzaak-gevolgrelaties met leefstijl- of omgevingsfactoren.

De potentie van post mortem patiëntmateriaal wordt beperkt door kleine aantallen medische obducties in Nederland. Tussen 1993 en 2013 nam dat aantal met 60% af. Een weer aantrekkelijke vraag zou kunnen stuiten op tekorten aan neuropathologen en capaciteitsproblemen bij de Hersenbank.

Synthesis of Evidence is veelal afhankelijk van verslaglegging in het verleden, die vaak te wensen overlaat. In een zich snel ontwikkelend vakgebied als de neurowetenschappen zullen data uit in het verleden uitgevoerde dierproeven vaak niet relevant meer zijn voor nieuwe onderzoeksvragen. Meer aandacht voor SoE leidt niet per se tot minder dierproeven: soms moet uit de analyse worden geconcludeerd dat uitbreiding van dierproeven op korte termijn de langetermijnbehoefte aan dierproeven kan verminderen.

PERSPECTIEVEN VOOR DE KOMENDE TIEN JAAR

- Net als collega's in andere wetenschapsgebieden zullen neurowetenschappers hun inspanningen intensiveren op het gebied van *Findable, Accessible, Interoperable and Reusable* opslag van (big) data en metadata, met inbegrip van ruwe data uit niet-gepubliceerd onderzoek en lichaamsmateriaal.
- Het ZonMw-programma *Meer Kennis met Minder Dieren* kan mogelijk subsidies voor *open access charges* voor proefdieronderzoek automatisch toekennen en zo het gebruik van deze regeling vergroten.
- Neurowetenschappelijke onderzoeksgroepen kunnen meer aandacht besteden aan *Synthesis of Evidence* door toepassing van richtlijnen voor het volledig en gestandaardiseerd rapporteren van dierproeven.
- In PhD-onderwijs kan meer aandacht komen voor de potentie van *Synthesis of Evidence, Open Science*, dierproefarme alternatieve onderzoeksmethoden en vaardigheden en motivaties van onderzoekers om deel te nemen aan het publieke debat over de ethiek van dierproeven.
- Umc's en overheid zullen hun inspanningen mogelijk intensiveren om barrières voor (her)gebruik van patiëntenmateriaal en -data voor fundamenteel onderzoek te verlagen, bijvoorbeeld door patiënten vooraf expliciete toestemming te vragen en onnodige drempels in wetgeving te verlagen.
- De Nederlandse Hersenbank en umc's zullen mogelijk nieuwe stappen kunnen zetten in de richting van intensiever en meer formele samenwerkingen.

4.4 Digitale modellen

Met behulp van bestaande en nieuw te ontwikkelen algoritmes en kunstmatige intelligentie kan in digitale omgevingen onderzoek worden gedaan aan simulatiemodellen van onderdelen van de hersenen. Dit wordt een in-silicoaanpak genoemd.

Grote nationale en internationale onderzoeksconsortia werken aan simulaties van diverse functies van de hersenen.⁵⁴ Zulke digitale simulatiemodellen kunnen ons helpen te analyseren hoe netwerken van hersencellen samen kunnen werken om een bepaalde functie uit te oefenen. Dat kan bijvoorbeeld nieuwe inzichten opleveren over hoe netwerken van hersencellen reageren op signalen van buitenaf of zelf signalen creëren die tot een hersenfunctie kunnen leiden.⁵⁵

Computermodellen worden gebruikt binnen alle thema's en op alle biologische niveaus van fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek: van molecuul tot populatie en omgeving. Ze zijn er ook in soorten en maten. Virtuele neurale netwerken die getraind kunnen worden om bepaalde taken uit te voeren, zijn bijvoorbeeld populair en met succes toegepast om signaalperceptie te simuleren. Ze kunnen ook worden gebruikt om signaalnetwerken binnen en tussen cellen en tussen hersengebieden te simuleren. De ambities van het Europese *Human Brain Project* (HBP)⁵⁶ liggen bijvoorbeeld op dit gebied.

Hersensimulatiemodellen kunnen de biologie van echte hersenen enigszins nabootsen. Onderzoek op dit gebied maakt ook steeds vaker gebruik van kunstmatige intelligentie (*artificial intelligence*), een veld dat overigens ook vormen van intelligentie bestudeert die niets te maken hebben met hersenprocessen in dieren of mensen.

Ontwikkelingen rond onderzoek met digitale modellen

Digitale modellering en kunstmatige intelligentie zijn gebieden die zich snel ontwikkelen. De mogelijkheden voor het bouwen van modellen zijn het afgelopen decennium sterk gegroeid, mede dankzij de toegenomen digitale rekenkracht, opslag- en transmissiesnelheid. Steeds grotere hoeveelheden data uit steeds meer bronnen kunnen worden verwerkt in steeds complexere modellen.

Moderne digitale modellen zouden bijvoorbeeld kunnen worden gebruikt om relatief kansrijke hypothesen (bijvoorbeeld over farmacologie, genmutaties,

54 Brose 2016.

55 Fairhall & Machens 2017.

56 Het *Human Brain Project* werd door de EU aangewezen als *flagship project* met een financiering van € 1 miljard en een looptijd van tien jaar.

structuurafwijkingen, trauma's of ziekten) te selecteren voor experimenten met andere methoden en technieken. Zo kunnen ze helpen meer nuttige informatie te verkrijgen uit experimenteel onderzoek aan mensen en dieren.

Onderzoek aan grote digitale modellen gebeurt momenteel vooral in internationale samenwerkingsverbanden, zoals het Europese HBP, waaraan ook verscheidene Nederlandse groepen deelnemen.

Inherente beperkingen

In weerwil van tot de verbeelding sprekende maar weinig realistische voorspellingen⁵⁷ is niet te verwachten dat simulatiemodellen op afzienbare termijn zullen leiden tot betrouwbare representaties van een volledig brein, laat staan van een diversiteit aan gezonde en zieke breinen die zich ontwikkelen in uiteenlopende veranderende omgevingen. De oorspronkelijke doelstelling van het HBP, om de menselijke hersenen beter te begrijpen door data uit onderzoek over uiteenlopende biologische niveaus te integreren in één simulatiemodel, is tot nu toe te ambitieus gebleken. Het HBP is, ook in de Nederlandse neurowetenschappen, controversieel.⁵⁸ De financiering ervan eindigt in 2023.

Belangrijk knelpunt bij de ontwikkeling van simulatiemodellen is een gebrek aan data uit biologische experimenten. Modellen kunnen maar heel beperkt worden gevoed met onderzoek aan bijvoorbeeld organoïden. Ze kunnen niet zonder historisch en nieuw dierexperimenteel onderzoek.

Hoewel steeds geavanceerdere modellen worden gebouwd, kunnen veel vragen niet *in silico* worden onderzocht. Ook in de toekomst zullen simulatiemodellen de extreme complexiteit van biologische breinen slechts tot op beperkte hoogte kunnen nabootsen. Daarbij zal het vooral gaan om simulaties van processen op afzonderlijke biologische niveaus.

Simulatie-experimenten kunnen wel kansrijke hypothesen genereren of selecteren, maar zullen biologisch onderzoek niet kunnen vervangen. De hypothesen zullen nog steeds moeten worden getoetst in biologische experimenten, inclusief experimenten waarin proefdieren worden ingezet.

57 De potentie van het HBP wordt vaak overschat, ook volgens de aanjager ervan (*Science* 2011, 334:6057, 748-749).

58 Veel neurowetenschappers staan kritisch tegenover het HBP (*Nature* 2015, 519: 389; *Nature* 2012, 482: 456-458).

PERSPECTIEVEN VOOR DE KOMENDE TIEN JAAR

- Fundamenteel onderzoek kan meer duidelijkheid geven over de vraag in hoeverre digitale modellen met succes kunnen worden gebruikt voor het genereren en selecteren van kansrijke hypothesen, bijvoorbeeld in fundamenteel onderzoek naar werkingsmechanismen en naar aangrijpingspunten voor farmacologisch onderzoek.
- Biologische experimenten, inclusief dierproefonderzoek, kunnen helpen om knelpunten bij de ontwikkeling van simulatiemodellen te bestrijden.

4.5 Invasief onderzoek bij de mens

In theorie is de mens voor neurowetenschappers een aantrekkelijk ‘proefdier’. Invasief onderzoek aan patiënten zou in principe onderzoek mogelijk maken waarin de interactie van hersencellen en hersengebieden met de rest van het lichaam en de omgeving intact blijft. Invasief onderzoek omvat echter methoden die het lichaam van patiënten binnendringen of veranderen, en heeft daarom te maken met strikte ethische grenzen.

Ontwikkelingen rond invasief onderzoek bij patiënten

Voorbeelden van invasieve methoden zijn behandelingen die hersendelen elektrisch prikkelen, hetzij door middel van elektroden (*deep brain stimulation* of DBS), hetzij door middel van inductiestromen van buitenaf opgewekt door directe elektrische stimulatie (tDCS) of wisselende magnetische velden (transcraniële magnetische stimulatie of TMS⁵⁹).

Hoewel het primaire doel in alle gevallen therapeutisch is, kan tijdens behandelingen in principe ook kennis worden vergaard over hoe stimulatie van bepaalde hersenstructuren functies kan beïnvloeden.

Neurochirurgie is de afgelopen dertig jaar veiliger geworden en de risico's van invasief onderzoek met dunne elektroden voor patiënten zijn kleiner geworden. Zo kunnen tijdens operaties tijdelijk diepte-elektroden of matjes met meerdere elektroden in de hersenen worden geplaatst dan wel *ultrasound probes* worden geïnstalleerd om activiteit in bepaalde structuren te meten en te relateren aan bepaalde hersenfuncties. Op dit moment worden nog dunnere elektroden en *probes* ontwikkeld die in de toekomst individuele cellen in de hersenen van patiënten kunnen prikkelen. De

59 Bij TMS genereert een veranderend magnetisch veld van buitenaf elektrische veranderingen tot een diepte van circa zes centimeter in de hersenen van een patiënt. De techniek wordt hier daarom als invasief onderzoek gezien.

gezondheidsrisico's lijken beperkt, maar zullen nog beter in kaart moeten worden gebracht door middel van dierproeven.

Invasief humaan onderzoek wordt alleen uitgevoerd in combinatie met medisch noodzakelijke operaties bij patiënten met bijvoorbeeld epilepsie of hersentumoren. Het vereist de instemming van de Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek (CCMO), lokale medisch-ethische toetsingscommissies (METC's), de arts en de patiënt, en is daardoor in de praktijk moeilijk te organiseren en schaars. Over deze technieken bestaat in de samenleving nog weinig bekendheid.

Inherente beperkingen

Bij invasief onderzoek aan patiënten komen belangrijke ethische en veiligheidsvragen kijken. Het gaat bovendien om kleine aantallen patiënten met vaak een aanzienlijke ziektelast.

Een van de randvoorwaarden voor ingrijpende methoden zoals neurochirurgie zal zijn dat overtuigend is aangetoond dat de gezondheidsrisico's voor patiënten uiterst klein en kortdurend zijn. Dat zal onder meer moeten gebeuren door middel van experimenten aan hogere zoogdieren.

Invasieve humane methoden blijven hoe dan ook dermate ingrijpend, dat niet te voorzien is dat ze worden toegepast voor fundamenteel onderzoek zonder dat sprake is van medisch noodzakelijke ingrepen. Ze zullen daarom ook in de toekomst hooguit op zeer beperkte schaal kunnen worden ingezet. Vrijwel nooit zullen invasieve interventies kunnen worden gedaan om werkingsmechanismen van de hersenen op te helderen. Hun potentie bij het vervangen, verminderen of verfijnen van dierproeven in fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek zal naar verwachting dan ook gering zijn.

PERSPECTIEVEN VOOR DE KOMENDE TIEN JAAR

- Onderzoek kan meer duidelijkheid geven over de vraag in hoeverre invasief stimuleren van de hersenen met behulp van tDCS en/of TMS en beeldvorming door middel van fUS van hersenactiviteit en/of tumoren tijdens hersenoperaties, bruikbaar zijn voor fundamenteel onderzoek.

5. CONCLUSIES

In deze inventarisatie heeft de KNAW een aantal innovatieve onderzoeksmethoden in de fundamentele neurowetenschappen in kaart gebracht die de komende tien jaar mogelijk bij kunnen dragen aan het streven om dierproeven waar mogelijk te vervangen, te verminderen of te verfijnen. Hiervoor zijn uiteenlopende innovatieve neurowetenschappelijke methoden, variërend van moleculaire technieken tot onderzoeksmethoden op het niveau van populaties, geëvalueerd.

Vertrekpunt was niet zozeer de vraag of een techniek of methode al of niet dierproeven omvat, maar of een methode antwoord kan geven op belangrijke en actuele onderzoeksvragen in het betreffende wetenschapsgebied. Voor de KNAW is ook essentieel dat de onderzoekscapaciteit en -kwaliteit niet mogen worden ingeperkt op een terrein waar Nederlands onderzoek internationaal excelleert.

Innovatieve technieken en methodes

Diverse in principe proefdierarme methoden en technieken hebben in recente jaren een hoge vlucht genomen. Zo is bijvoorbeeld celbiologisch onderzoek verrijkt met een techniek om uit lichaamscellen van een mens stamcellen en klompjes hersenweefsel (organoïden) te winnen, waarmee op cellulair niveau naar de werking van hersencellen kan worden gekeken. Niet-invasieve beeldvormende en elektrofysiologische technieken kunnen hersenactiviteit bij mensen met grotere precisie meten en combineren met *virtual* en *augmented reality*. De mogelijkheden voor het nabootsen van hersenprocessen in rekenmodellen zijn sterk verbeterd en initiatieven gericht op *Open Science* kunnen de registratie en publicatie van resultaten van dierproefonderzoek en (her)gebruik van bestaande datasets versterken.

De KNAW constateert dat zulke innovaties de komende tien jaar op sommige plekken nieuwe opties zullen bieden voor onderzoek waarin geen, minder of meer verfijnde dierproeven worden toegepast.

Fundamentele neurowetenschap blijft vragen om een mix van methoden

Tegelijk constateert de KNAW met enige nadruk dat de beschreven technieken en methoden serieuze beperkingen hebben en dat hun bijdrage aan het fundamenteel onderzoek daardoor vooralsnog relatief bescheiden zal blijven.

Organoïden bijvoorbeeld zijn geen kleine hersenen en missen met name de interactie met de omgeving. Zelfs de meest geavanceerde niet-invasieve beeldvormende technieken kunnen geen hersenprocessen meten op het niveau van cellen. En invasief hersenonderzoek bij mensen zal vanwege ethische barrières slechts een beperkte bijdrage kunnen leveren aan fundamenteel onderzoek.

De meeste van de geïnventariseerde innovatieve methoden en technieken kunnen op zichzelf nog geen antwoord geven op actuele onderzoeksvragen in het wetenschapsgebied, vragen die cruciaal zijn voor de hersengerelateerde uitdagingen waar onze samenleving voor staat.

Die 'grote onderzoeksvragen' vereisen steeds meer integratie van kennis en inzichten op verschillende biologische niveaus, van moleculaire processen tot en met de ontwikkeling van sociaal gedrag van organismen en populaties. Dat vraagt op zijn beurt om onderzoek met een mix van vele methoden en technieken, variërend van genetica tot en met gedragsonderzoek, van fysiologische metingen tot en met geavanceerde hersenscans. Dierproeven zijn en blijven in de voorzienbare toekomst onmisbare basiscomponenten van die mix.

Aantallen dierproeven kunnen niet betrouwbaar worden voorspeld

In Nederland is en wordt het 3V-principe (waar mogelijk vervanging, vermindering en verfijning van dierproeven) al jaren toegepast. Daar komt geen verandering in. Wat dat de komende tien jaar per saldo betekent voor het aantal voor fundamenteel onderzoek benodigde dierproeven, is niettemin onmogelijk te voorspellen. Zo'n voorspelling wordt in deze inventarisatie dan ook niet gedaan.

Duidelijk is wel dat niet op voorhand moet worden verwacht dat voor fundamentele neurowetenschappen de komende tien jaar minder dierproeven nodig zullen zijn. In recente jaren is in het fundamenteel wetenschappelijk biomedisch onderzoek van

zo'n afname ook geen sprake geweest, integendeel: de laatste jaren nam de noodzaak van dierproeven per saldo juist wat toe.

Waar sommige innovatieve methoden alternatieven kunnen aanreiken voor dierproeven, zullen die methoden anderzijds vaak niet zonder aanvullende dierproeven kunnen worden ontwikkeld en gevalideerd. Nieuwe vragen over het complexe systeem van organismen en populaties van organismen zullen vragen om nieuwe typen dierproeven. Revolutionaire technieken zoals optogenetica, genetisch gemodificeerde diermodellen, *silicon probes* en beeldvorming van levende hersenen kunnen alleen met hulp van dierproeven tot nieuwe kennis leiden.

Net als andere organisaties signaleert de KNAW ook dat vandaag de dag per dierproef gemiddeld wel veel meer kennis wordt verzameld dan vroeger. Dat gebeurt onder meer dankzij betere meettechnieken, betere diermodellen, het benutten van één experiment voor verscheidene onderzoeksvragen en het gebruiken van innovatieve methoden om kansrijker hypothesen te selecteren. Meer en meer concentreert het onderzoek in Nederland zich op muizen, ratten en vissen en minder op hogere zoogdieren. Die trends zullen de komende jaren doorzetten, verwacht de KNAW.

Tot slot

Hoogwaardig fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek is van groot belang voor de Nederlandse samenleving. Voor de beantwoording van de actuele onderzoeksvragen blijft een brede mix van methoden en investeringen in methoden cruciaal.

Nederlandse neurowetenschappers kiezen al jaren voor een mix van methoden die het ongerief voor dieren zo veel als mogelijk beperken. De KNAW vertrouwt erop dat zij dat de komende tien jaar, mede geholpen door voortgaande ontwikkeling van innovatieve onderzoekstechnieken en -methoden, met dezelfde overtuiging en inzet zullen blijven doen.

BIJLAGE 1:

ACTUELE VRAGEN IN DE NEUROWETENSCHAPPEN

De commissie-Bijker⁶⁰ verzamelde uit diverse bronnen voorbeelden van nog onbeantwoorde vragen voor de neurowetenschappen. De lijst geeft een indruk van de verscheidenheid aan biologische niveaus waarop de fundamentele neurowetenschappen zich bewegen. Deze lijst is uiteraard niet uitputtend en bovendien aan voortdurende verandering onderhevig, al was het maar omdat antwoorden op fundamentele onderzoeksvragen weer nieuwe vragen oproepen.

Bronnen voor deze lijst waren onder meer:

- Leden van de commissie;
- Nationale Wetenschapsagenda (NWA);
- Gesprekken met onderzoekers uit het veld (zie bijlage 3);
- Input uit het Nederlandse werkveld neurowetenschappen op de NWA (verwerkt door prof. Pennartz);
- Onderzoeksagenda NeurolabNL, juni 2018;
- Yeung, A.W.K., Goto, T.K. & Leung, W.K. (2017). At the leading front of neuroscience: a bibliometric study of the 100 most-cited articles, *Frontiers in Human Neuroscience*, 11:363;
- Grillner, S., Ip, N., Koch, C., Koroshetz, W., Okano, H., Polachek, M., ... Sejnowski, T.J. (2016). Worldwide initiatives to advance brain research, *Nature Neuroscience*, 19(9), 1118-1122;
- A collection of essays and perspectives on the future of global neuroscience (2016). *Neuron*, 92(3), 557-668;

60 Commissie-Bijker 2019.

- Adolphs, R. (2015). The unsolved problems of neuroscience, *Trends in Cognitive Sciences*, 19(4), 173-175;
- Roberts, L. & J. Travis (2012). Mysteries of the Brain, *Science*, 338(6103), 30.

Actuele fundamentele onderzoeksvragen in de neurowetenschappen

- Wat is de biologische basis van bewustzijn?
- Wat is de biologische basis van geheugen?
- Wat is de functie, of wat is het nut van slaap?
- Wat is de functie, of wat is het nut van dromen?
- Hoe ervaren we pijn?
- Hoe nemen we beslissingen?
- Wat is de biologische basis voor intelligentie?
- Hoe interacteren het immuunsysteem en het zenuwstelsel?
- Hoe genereert het brein je 'zelf'?
- Hoe werkt leren?
- Hoe genereert je brein abstracte ideeën?
- Hoe kunnen we ieders brein het beste laten functioneren?
- Hoe kan cognitie zo flexibel en generatief zijn?
- Hoe selecteert en filtert ons brein informatie?
- Wat is de functie van stervormige astrocyten in het brein?
- Kunnen we bepaalde functies koppelen aan bepaalde hersenstructuren?
- Hoe is informatie gecodeerd in neuronen?
- Hoe werken circuits van neuronen samen?
- Wat is het complete neuronale netwerk van het muizenbrein (70.000.000 neuronen)?
- Hoe maakt het muizenbrein een berekening, of neemt het een beslissing?
- Wat is het complete neuronale netwerk van het menselijk brein?
- Hoe maakt het menselijk brein een berekening, of neemt het een beslissing?
- Hoe kunnen de actieve hersenen van een levende muis of een levende mens in beeld worden gebracht op cellulair niveau en per milliseconde?
- Hoe kunnen we het centraal zenuwstelsel laten regenereren na letsel?
- Wat veroorzaakt psychische stoornissen?
- Wat veroorzaakt neurologische ziekten?
- Hoe kunnen we hersenziekten beter genezen?
- Wat zijn de moleculaire en cellulaire veranderingen die optreden bij psychische stoornissen of neurologische ziektes?
- Wat is de biologische basis van emoties?
- Wat is de biologische basis van een 'besef van tijd'?
- Wat is de biologische basis van onze zintuigen?
- Wat betekent het om de functie van ons brein te begrijpen? Betekent dit een begrip van functie, een begrip van biologie of bijvoorbeeld een begrip van cognitie?

- Kunnen wij zelf een brein bouwen?
- Hoe is het brein ontstaan in de evolutie?
- Hoe kunnen de hersenen enorme hoeveelheden data opnemen, analyseren, gebruiken, opslaan en weer terughalen?
- Hoe kunnen we nieuwe geneesmiddelen en -wijzen ontwikkelen om zo vitaal en gezond mogelijk te blijven?
- Hoe ontwikkelt het zenuwstelsel zich en hoe kunnen processen van degeneratie ervan worden tegengegaan?
- Hoe kan de gezondheidszorg meer gericht worden op de uniciteit van een persoon, onder andere door gebruik te maken van biomarkers?
- Hoe ontstaan neurologische, psychiatrische en psychische aandoeningen en hoe kunnen we ze voorkomen, verzachten of verhelpen?
- Hoe bevorderen we gezondheid en voorkomen we ziekte via een gezond(e) leefstijl en gedrag?
- Big data: kunnen we grote datasets en het verzamelen daarvan benutten voor het realiseren van waarden, het genereren van inzichten en het verkrijgen van antwoorden?
- Begrijpen van ons gedrag: waarom doen wij wat we doen, zijn we wie we zijn en welke factoren beïnvloeden ons gedrag?
- Op welke manier kun je de hersenontwikkeling van baby's stimuleren?
- Is het ethische besluitvormingsproces computationeel?
- Kunnen mensen vrij en verantwoordelijk handelen?
- Hoe kunnen niet-fysicalistische modellen voor bewustzijn empirisch getoetst worden?
- Hoe zou het onderwijs van de toekomst eruit moeten zien?
- Hoe kunnen – op basis van fundamenteel neurowetenschappelijk onderzoek ontwikkelde – biomarkers worden ingezet bij het vaststellen van de aard en prognose van stressgerelateerde psychiatrische aandoeningen (depressie, angst, verslaving)?
- Kan de perceptie van kleur in kunst zowel kunsthistorisch als neuropsychologisch en neurowetenschappelijk verklaard worden?
- Is het mogelijk door een combinatie van cognitieve neurowetenschap en *cultural memory studies* meer inzicht te verwerven in de relatie tussen het menselijk brein en de wijze waarop culturen kennis verbeelden, overdragen en opslaan?
- Hoe kan het translationeel samenwerken van neurowetenschappelijk en klinisch-psychiatrisch werkende onderzoekers worden verbeterd?
- Hoe kunnen we de rekenkracht van onze hersenen kopiëren als alternatief voor energiedorstige informatieprocessors?
- Wat is cognitie?
- Hoe verwerkt en onthoudt ons brein informatie en wat is daarbij de rol van plasticiteit en netwerken op verschillende (microscopische en macroscopische) niveaus?

- Hoe ontstaat het bewustzijn uit de activiteit van de hersenen?
- Is het in de toekomst mogelijk chiptechnologie te implanteren en te koppelen aan spieren of hersenactiviteiten?
- Spelen bacteriën een rol bij het ontstaan van hersen- en zenuwaandoeningen zoals Alzheimer, MS, depressies en schizofrenie?
- Welke omstandigheden zijn cruciaal voor een optimale (hersenen)ontwikkeling van een baby?
- Hoe leidt een specifieke activiteit in de hersenen tot bepaald gedrag?
- Hoe kunnen medicijnen de bloed-hersenbarrière worden overgebracht zodat ze effectief hun werk kunnen doen op de juiste plaats?
- Welke (hersenen)processen spelen een rol bij de ervaring van vrije wil?
- Wat zijn de gevolgen van inzichten uit hersen- en cognitiewetenschappen voor leren en onderwijzen, onder meer voor het motiveren van leerlingen en omgaan met verschillen?

BIJLAGE 2:

GERAADPLEEGDE LITERATUUR

- Adolphs, R. (2015). The unsolved problems of neuroscience. *Trends in Cognitive Sciences*, 19(4), 173-175. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2015.01.007>.
- Barker, N., ... Clevers, H. (2010). Lgr5(+ve) stem cells drive self-renewal in the stomach and build long-lived gastric units in vitro. *Cell Stem Cell*, 6(1), 25-36. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2009.11.013>.
- Behl, C. & Ziegler, C. (Eds.) (2017). Beyond Amyloid [Special Issue]. *Journal of Neurochemistry*, 143(4).
- Bohil, C.J., Alicea, B. & Biocca, F.A. (2011). Virtual reality in neuroscience research and therapy. *Nature Reviews Neuroscience*, 12(12), 752-762. <https://doi.org/10.1038/nrn3122>.
- Bolger, N. & Laurenceau, J.P. (2013). *Intensive longitudinal methods: An introduction to diary and experience sampling research*. New York, N.Y.: Guilford Press.
- Brose, K. (Ed.) (2016). Global Neuroscience [Special Issue]. *Neuron*, 92(3).
- Budinger, T.F., Bird, M.D., Frydman, L., Long, J.R., Mareci, T.H., Rooney, W.D., ... Wald, L.L. (2016). Toward 20 T magnetic resonance for human brain studies: opportunities for discovery and neuroscience rationale. *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*, 29(3), 617-639. <https://doi.org/10.1007/s10334-016-0561-4>.
- Bunce, S., Izzetoglu, M., Izzetoglu, K., Onaral, B. & Pourrezaei, K. (2006). Functional near-infrared spectroscopy. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine*, 25(4), 54-62. <https://doi.org/10.1109/memb.2006.1657788>.
- Bush, V. (1945). *Science, the endless frontier. A report to the President*. Washington, U.S.: United States Government Printing Office.
- Button, K.S., Ioannidis, J.P.A., Mokrysz, C., Nosek, B.A., Flint, J., Robinson, E.S.J. & Munafò, M.R. (2013). Power failure: why small sample size undermines the reliability of neuroscience. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(5), 365-376. <https://doi.org/10.1038/nrn3475>.
- Byrom, B., McCarthy, M., Schueler, P. & Muehlhausen, W. (2018). Brain monitoring devices in neuroscience clinical research: the potential of remote monitoring using sensors, wearables, and mobile devices. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 104(1), 59-71. <https://doi.org/10.1002/cpt.1077>.
- Carneiro, C.F.D., Moulin, T.C., Macleod, M.R. & Amaral, O.B. (2018). Effect size and statistical power in the rodent fear conditioning literature – A systematic review. *PLoS One*, 13(4), e0196258. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196258>.

- Cho, C., Wolfe, J.M., Fadzen, C.M., Calligaris, D., Hornburg, K., Chiocca, E.A., ... Lawler, S.E. (2017). Blood-brain-barrier spheroids as an in vitro screening platform for brain-penetrating agents. *Nature Communications*, 8: 15623. <https://doi.org/10.1038/ncomms15623>.
- Cogem/Gezondheidsraad/WRR (2016). *Trendanalyse Biotechnologie, Regelgeving ontregeld*.
- Commissie-Bijker (2019). *Excellent hersenonderzoek met minder dierproeven – Kansen en uitdagingen voor proefdiervrij onderzoek in de neurowetenschappen* (interne KNAW-verkenning).
- Csikszentmihalyi, M., Larson, R. & Prescott, S. (1977). The ecology of adolescent activity and experience. *Journal of Youth and Adolescence*, 6(3), 281-294.
- Deffieux, T., Demene, C., Pernot, M. & Tanter, M. (2018). Functional ultrasound neuroimaging: a review of the preclinical and clinical state of the art. *Current Opinion in Neurobiology*, 50, 128-135. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2018.02.001>.
- Deisseroth, K., Feng, G., Majewska, A.K., Miesenbock, G., Ting, A. & Schnitzer, M.J. (2006). Next-generation optical technologies for illuminating genetically targeted brain circuits. *Journal of Neuroscience*, 26(41), 10380-10386. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.3863-06.2006>.
- Denktank Aanvullende Financiering alternatieven voor dierproeven (2015). *In transitie! Nederland internationaal toonaangevend in proefdiervrije innovaties*. Geraadpleegd op www.tweedekamer.nl/kamerstukken/detail?id=2015D41402&did=2015D41402.
- Di Lullo, E. & Kriegstein, A.R. (2017). The use of brain organoids to investigate neural development and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 18(10), 573-584. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.107>.
- European Commission (2013). *Seventh Report from the Commission to the Council and the European Parliament on the Statistics on the number of animals used for experimental and other scientific purposes in the member states of the European Union*. Geraadpleegd op http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/reports_en.htm.
- Fairhall, A. & Machens, C. (2017). Editorial overview: computational neuroscience. *Current Opinion in Neurobiology*, 46:A1-A5. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.09.009>.
- Farahany, N.A., Greely, H.T., Hyman, S., Koch, C., Grady, C., Paşca, S.P., ... Song, H. (2018). The ethics of experimenting with human brain tissue. *Nature*, 556(7702), 429-432. <https://doi.org/10.1038/d41586-018-04813-x>.
- Grillner, S., Ip, N., Koch, C., Koroshetz, W., Okano, H., Polachek, M., ... Sejnowski, T.J. (2016). Worldwide initiatives to advance brain research. *Nature Neuroscience*, 19(9), 1118-1122. <https://doi.org/10.1038/nn.4371>.
- Hassabis, D., Kumaran, D., Summerfield, C. & Botvinick, M. (2017). Neuroscience-inspired artificial intelligence. *Neuron*, 95(2), 245-258. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.06.011>.
- Kruizinga, P., Van der Meulen, P., Fedjajevs, A., Mastik, F., Springeling, G., De Jong, N., Bosch, J.G., Leus, G. (2017). Compressive 3D ultrasound imaging using a single sensor. *Science Advances*, 3(12). <https://doi.org/10.1126/sciadv.1701423>.
- MacArthur Clark, J. (2018). The 3Rs in research: a contemporary approach to replacement, reduction and refinement. *British Journal of Nutrition*, 120(s1), S1-S7. <https://doi.org/10.1017/S0007114517002227>.
- Mansour, A.A., Gonçalves, J.T., Bloyd, C.W., Li, H., Fernandes, S., Quang, D., ... Gage, F.H. (2018). An in vivo model of functional and vascularized human brain organoids. *Nature Biotechnology*, 36(5), 432-441. <https://doi.org/10.1038/nbt.4127>.
- Max-Planck-Gesellschaft (2016). *Tierversuche in der Max-Planck-Gesellschaft*. Rapport van speciale commissie over dierproeven in fundamenteel onderzoek. www.mpg.de/themenportal/tierversuche.

- McLaughlin, K. (2016). China finally setting guidelines for treating lab animals. *Sciencemag.org*, 21/5/2016. <https://doi.org/10.1126/science.aaf9812>.
- Miller, G. (2012). Brain Teasers. *Science*, 338(6103), 39. <https://doi.org/10.1126/science.338.6103.39>.
- NARCIS - *National Academic Research and Collaborations Information System* [Database]. Geraadpleegd op www.narcis.nl.
- Nationaal Comité advies dierproevenbeleid (2016a). *Synthesis of Evidence in het proefdieronderzoek*. Geraadpleegd op www.ncadierproevenbeleid.nl/documenten/rapport/2016/5/17/ncad-advies-soe.
- Nationaal Comité advies dierproevenbeleid (2016b). *Transitie naar proefdiervrij onderzoek over mogelijkheden voor het uitfaseren van dierproeven en het stimuleren van proefdiervrije innovatie*. Advies van het Nationaal Comité advies dierproevenbeleid (NCad) in opdracht van de staatssecretaris van Economische Zaken. Geraadpleegd op www.ncadierproevenbeleid.nl/documenten/rapport/2016/12/15/ncad-advies-transitie-naar-proefdiervrij-onderzoek.
- NVWA (2019). Zo doende 2017. *Jaaroverzicht dierproeven en proefdieren van de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit*. Geraadpleegd op www.nvwa.nl/documenten/dier/dierenwelzijn/zo-doende/publicaties/zo-doende-2017-jaaroverzicht-dierproeven-en-proefdieren-van-de-nvwa.
- Nzou, G., Wicks, R.T., Wicks, E.E., Seale, S.A., Sane, C.H., Chen, A. & Atala, A.J. (2018). Human cortex spheroid with a functional blood brain barrier for high-throughput neurotoxicity screening and disease modeling. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25603-5>.
- Park, J.L., Dudchenko, P.A. & Donaldson, D.I. (2018). Navigation in real-world environments: new opportunities afforded by advances in mobile brain imaging. *Frontiers in Human Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2018.00361>.
- RIVM (2018). *Proefdiervrije innovaties in het regulatoire veld (PIRV)*. Geraadpleegd op www.rivm.nl/Documenten_en_publicaties/Algemeen_Actueel/Nieuwsberichten/2018/Op_weg_naar_een_proefdiervrije_veiligheidsbeoordeling_van_stoffen.
- Roberts, L. & Travis, J. (2012). Mysteries of the brain. *Science*, 338(6103), 30. <https://doi.org/10.1126/science.338.6103.30-a>.
- Russell, W.M.S. & Burch, R.L. (1958). *The Principles of Humane Experimental Technique*. London, UK: Methuen.
- Sejnowski, T.J., Churchland, P.S. & Movshon, J.A. (2014). Putting big data to good use in neuroscience. *Nature Neuroscience*, 17(11), 1440-1441. <https://doi.org/10.1038/nn.3839>.
- Shen, Y., Yan, L., Shao, X., Zhao, B., Bai, J., Lu, W. & Wang, D.J. (2018). Improved sensitivity of cellular MRI using phase-cycled balanced SSFP of ferumoxytol nanocomplex-labeled macrophages at ultrahigh field. *International Journal of Nanomedicine*, 13: 3839-3852. <https://doi.org/10.2147/ijn.s169860>.
- Stokes, D.E. (1997). *Pasteur's quadrant – basic science and technological innovation*. Washington DC: Brookings Institution Press.
- Takahashi, K. & Yamanaka, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 126(4), 663-676. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>.
- Van der Helm, M.W., Van der Meer, A.D., Eijkel, J.C., Van den Berg, A. & Segerink, L.I. (2016). Microfluidic organ-on-chip technology for blood-brain barrier research. *Tissue Barriers*, 4(1), e1142493. <https://doi.org/10.1080/21688370.2016.1142493>.

- Vitale, F., Vercosa, D.G., Rodriguez, A.V., Pamulapati, S.S., Seibt, F., Lewis, E., ... Robinson, J.T. (2017). Fluidic microactuation of flexible electrodes for neural recording. *Nano Letters*, 18(1), 326-335. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.7b04184v>.
- Yeung, A.W.K., Goto, T.K. & Leung, W.K. (2017). At the leading front of neuroscience: a bibliometric study of the 100 most-cited articles. *Frontiers in Human Neuroscience*, 11, 363. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2017.00363>.

BIJLAGE 3:

VERANTWOORDING

Deze inventarisatie kwam tot stand onder verantwoordelijkheid van de KNAW. Aan de basis ervan lag een verkenning getiteld *Excellent hersenonderzoek met minder dierproeven – Kansen en uitdagingen voor proefdier vrij onderzoek in de neurowetenschappen*,⁶¹ begin 2019 opgesteld door een door de KNAW ingestelde commissie. Als deel van haar werk hoorde deze commissie vele interne en externe deskundigen. In deze inventarisatie verwerkte de KNAW aanvullende reacties en bijdragen van een klankbordgroep van leden afkomstig uit het domein Medische, Medisch-Biologische en Gezondheidswetenschappen (MMBG).

De KNAW is aan al deze personen veel dank verschuldigd.

Verkennde commissie

Tot leden van de commissie (de commissie-Bijker) werden door de KNAW op persoonlijke titel benoemd:

- Prof. dr. ir. Wiebe Bijker (voorzitter), emeritus hoogleraar techniek en samenleving (Universiteit Maastricht);
- Prof. dr. Tjard de Cock Buning, hoogleraar Toegepaste ethiek in de levenswetenschappen (VU);
- Prof. dr. Barbara Franke, hoogleraar moleculaire psychiatrie (Radboud Universiteit);
- (Tot juni 2018:) Prof. dr. Coenraad Hendriksen, bijzonder hoogleraar

⁶¹ Op aanvraag beschikbaar.

alternatieven voor dierproeven, Universiteit Utrecht, lid NCad;

- Prof. dr. Elly Hol, hoogleraar biologie van glia en neurale stamcellen (Universiteit van Amsterdam);
- Dr. Esther Hosli, strategisch adviseur (Hersenstichting);
- Prof. dr. Martien Kas, hoogleraar neurobiologie van gedrag (Rijksuniversiteit Groningen);
- Prof. dr. Huib Mansvelder, hoogleraar neurofysiologie (VU);
- Prof. dr. Wiro Niessen, hoogleraar medische beeldverwerking (Technische Universiteit Delft);
- (Vanaf juni 2018:) Prof. dr. ir. Jan-Bas Prins, hoogleraar proefdierwetenschappen, Universiteit Leiden, lid NCad;

De commissie werd ondersteund door Dr. Marije aan den Toorn (beleidsmedewerker KNAW).

Geraadpleegde deskundigen

Als deel van haar verkenningen sprak de commissie-Bijker met een groot aantal deskundigen:

- Dr. Marco Boks, medische psychiatrie (Universiteit Utrecht);
- Prof. dr. Arjen Brussaard, directeur Amsterdam Neuroscience (Amsterdam UMC);
- Prof. dr. Damiaan Denys, hoogleraar psychiatrie (Universiteit van Amsterdam);
- Prof. dr. Serge Dumoulin, hoogleraar perceptie, cognitie en neurowetenschap (Universiteit Utrecht), directeur Spinoza Centre for Neuroimaging;
- Prof. dr. Bart Eggen, adjunct-hoogleraar moleculaire neuroimmunologie (Rijksuniversiteit Groningen);
- Prof. dr. Rainer Goebel, hoogleraar cognitieve neurowetenschappen (Universiteit Maastricht), directeur Maastricht Brain Imaging Centre;
- Prof. dr. Peter Hagoort, hoogleraar cognitieve neurowetenschap (Radboud Universiteit), directeur Max Planck Instituut voor Psycholinguïstiek, directeur Donders Centre for Cognitive Neuroimaging;
- Dr. Vivi Heine, universitair docent pediatrie neurologie (VU), bestuurslid VU/VUmc iPSCenter;
- Dr. Inge Huitinga, immunologische afweer in de hersenen (Nederlands Herseninstituut, KNAW), directeur Nederlandse Hersenbank;
- Prof. dr. Marian Joëls, hoogleraar neurobiologie van omgevingsfactoren (Rijksuniversiteit Groningen), lid Raad van Bestuur UMCG;
- Dr. Nael Nadif Kasri, moleculaire neurofysiologie (Radboud Universiteit);
- Prof. dr. Steven Kushner, hoogleraar neurobiologische psychiatrie (Erasmus Universiteit Rotterdam);

- Dr. Maarten Loos, chief executive officer (Sylics/Synaptologics BV);
- Prof. dr. Cyriel Pennartz, hoogleraar cognitieve en systeemneurowetenschappen (Universiteit van Amsterdam);
- Prof. dr. Nick Ramsey, hoogleraar cognitieve neurowetenschappen (Universiteit Utrecht);
- Prof. dr. Pieter Roelfsema, hoogleraar neurobiologie van cognitie en gedrag (VU), directeur Nederlands Herseninstituut (KNAW);
- Dr. Iris van Rooij, universitair hoofddocent kunstmatige intelligentie (Radboud Universiteit);
- Prof. dr. Guus Smit, hoogleraar experimentele dierkunde, in het bijzonder de moleculaire en cellulaire neurobiologie (VU);
- Prof. dr. Paul Tiesinga, hoogleraar neuroinformatica (Radboud Universiteit);
- Debby Weijers, MSc, directeur Stichting Proefdiervrij;
- Prof. dr. Marieke Wichers, hoogleraar dynamiek in emotieregulatie en psychopathologie (Rijksuniversiteit Groningen).

Klankbordgroep

Als leden van de klankbordgroep van KNAW-leden uit het MMBG-domein traden op:

- Prof. dr. Douwe Breimer, emeritus hoogleraar farmacologie, oud-rector magnificus (Universiteit Leiden);
- Prof. dr. Ron Fouchier, hoogleraar moleculaire virologie (Erasmus Universiteit Rotterdam), voorzitter KNAW-Domein Medische, Medisch-Biologische en Gezondheidswetenschappen;
- Prof. dr. Peter Hagoort, hoogleraar cognitieve neurowetenschap (Radboud Universiteit), directeur Max Planck Instituut voor Psycholinguïstiek, directeur Donders Centre for Cognitive Neuroimaging;
- Prof. dr. Marian Joëls, hoogleraar neurobiologie van omgevingsfactoren (Rijksuniversiteit Groningen), lid Raad van Bestuur UMCG;
- Prof. dr. André Knottnerus, emeritus hoogleraar huisartsgeneeskunde (Universiteit Maastricht), oud-voorzitter Wetenschappelijke Raad voor het Regeringsbeleid;
- Prof. dr. Jos van der Meer, emeritus hoogleraar interne geneeskunde (Radboud Universiteit), voorzitter KNAW-sectie geneeskunde;
- Prof. dr. Pieter Roelfsema, hoogleraar neurobiologie van cognitie en gedrag (VU), directeur van het Nederlands Herseninstituut (KNAW), lid NCad.

BIJLAGE 4: OPDRACHTBRIEVEN



Ministerie van Onderwijs, Cultuur en
Wetenschap

>Retouradres Postbus 16375 2500 BJ Den Haag

Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen
T.a.v. de heer prof. dr. J.F.T.M. van Dijck, president
Postbus 19121
1000 GC AMSTERDAM

**Onderzoek en
Wetenschapsbeleid**
Rijnstraat 50
Den Haag
Postbus 16375
2500 BJ Den Haag
www.rijksoverheid.nl

Contactpersoon
D. van Bentem
T +31 6 46 84 90 10
d.vanbentem@minocw.nl

Onze referentie
1194440

Bijlagen
2

Datum **13 JUN 2017**
Betreft Verzoek opstellen Agenda Proefdiervrije Innovatie

Geachte heer Van Dijck,

Op 15 december 2016 heb ik, staatssecretaris Van Dam (Economische Zaken), het advies 'Transitie naar proefdiervrij onderzoek' in ontvangst genomen uit handen van het Nationaal Comité advies dierproevenbeleid (NCad). In deze brief wordt de achtergrond geschetst en het gewenste vervolg, met een verzoek aan u daar een rol in te spelen. Tot slot worden daarbij uitgangspunten meegegeven, het belang van samenwerking met verschillende partijen uiteengezet, en wordt een bijbehorend tijdpad gegeven.

Achtergrond

Genoemd advies bouwt voort op het eerdere rapport van de Denktank Aanvullende Financiering alternatieven voor dierproeven, getiteld 'In transitie! Nederland internationaal toonaangevend op het gebied van proefdiervrije innovaties', dat in november 2015 is gepresenteerd. De Denktank stelt dat een transitieproces ingezet kan worden van werken met dierproeven naar proefdiervrij werken en spreekt daarbij de ambitie uit dat Nederland in 2025 wereldleider proefdiervrije innovatie moet zijn. Deze ambitie is eerder door de staatssecretaris van Economische Zaken omarmd.

Nederland wereldleider proefdiervrije innovatie in 2025

In het NCad-advies wordt nader uitgewerkt hoe Nederland die ambitie waar kan maken. Het bevat een koers op hoofdlijnen voor een transitie naar proefdiervrij werken in de wetenschap. Het benoemt heldere transitiedoelen:

- binnen het fundamenteel wetenschappelijk onderzoek is afbouw of uitfasering van het proefdiergebruik op korte termijn niet in alle domeinen realistisch. Het NCad adviseert om per fundamenteel wetenschappelijk onderzoeksdomein een streefbeeld voor de komende tien jaar te laten ontwikkelen, gericht op vermindering van het proefdiergebruik;
- binnen het toegepast en translationeel onderzoek is Nederland in 2025 internationaal voortrekker op het gebied van proefdiervrije innovaties;

KONINKLIJKE NEDERLANDSE AKADEMIE VAN WETENSCHAPPEN	
No.	72056
Ingek.	14 JUN 2017
Actie:	Kopie naar:
BWK	DIR

Pagina 1 van 4

- door een focus op proefdiervrije praktijk en reflectie op proefdiergebruik in het onderwijs kan het gebruik van dieren voor onderwijs en training sterk verminderd worden.

Onze referentie
1194440

Ons streven is om een Agenda Proefdiervrije Innovatie (hierna agenda) op te (doen) stellen, die de transitieroute naar proefdiervrij werken voor de komende tien jaar concreetiseert en hiermee voor alle betrokken partijen inhoud en richting geeft aan het proces. Daar ieder van u, vanuit de eigen invalshoek, een directe rol en verantwoordelijkheid heeft in het kader van de (realisatie van de) hiervoor genoemde transitiedoelen, achten wij het van belang ons te richten tot zowel u als het NCad met het volgende verzoek.

Verzoek

Uitgaande van de ambitie om Nederland in 2025 internationaal koploper proefdiervrije innovatie te maken en gebaseerd op het advies 'Transitie naar proefdiervrij onderzoek' dat bij deze brief is gevoegd, verzoeken wij u om voornoemde agenda op te stellen en uit te werken.

De agenda moet ambitieuze, maar concrete en haalbare doelstellingen bevatten en inzichtelijk maken welke stappen nodig zijn om de doelen op nationaal en /of op internationaal niveau te realiseren of tenminste dichterbij te brengen. Daarbij is het uiteraard van belang dat de kwaliteit van het fundamenteel onderzoek gewaarborgd blijft.

Uitgangspunten

Voor de uitwerking van de agenda onderscheiden we in dit proces twee fasen:

1. fase 1: de ontwerpfasen waarin de systematiek ontwikkeld wordt voor het opstellen van de agenda. Het NCad is direct na de overhandiging van het eigen advies gestart met de ontwikkeling van deze systematiek en hierin al een eind gevorderd. Wij gaan ervan uit dat het NCad dit proces op korte termijn kan afronden. Tot fase 1 wordt echter ook gerekend het uitvoeren van één of enkele pilots. Wij vragen de KNAW deze met betrokkenheid van het NCad uit te voeren.
2. fase 2: de uitwerkingsfase, waarin de agenda daadwerkelijk wordt opgesteld. We vragen de KNAW deze uitvoeringsagenda in samenspraak met het veld te realiseren. Het NCad vragen wij in deze fase een monitorende en evaluerende rol op zich te nemen en met eventuele adviezen en suggesties de opstelling van de agenda te begeleiden.

Wij vragen u om:

- a. zowel voor het fundamenteel wetenschappelijk onderzoek als voor onderwijs en training streefbeelden uit te werken. Elk streefbeeld dient, gericht op de transitie naar proefdiervrij onderzoek, heldere transitiedoelen te bevatten voor de komende tien jaar, die aansluiten op de kernvragen van het betreffende wetenschappelijke onderzoeksdomein. Bovendien dienen ze inzicht te geven in de kansrijkheid van proefdiervrije innovaties binnen dat domein, en hoe het gebruik van alternatieven wordt opgenomen in educatie en training;

- b. met betrekking tot het toepassings- en translationeel onderzoek de meest kansrijke proefdiervrije innovatietrajecten te identificeren en ze in termen van kansrijkheid en haalbaarheid ten opzichte van elkaar te prioriteren. Wij vragen u eveneens om per geprioriteerd kansrijk innovatietraject het 'Multi-Level Perspective' uit te werken (korthedshalve verwijzen wij hiervoor naar het NCad-advies), zodat concreet in beeld komt waar in de keten de desbetreffende innovatie zich op dat moment bevindt en welke 'drivers en barriers' aan de orde zijn. Hiermee kan op concrete en efficiënte wijze vastgesteld worden waar welke interventies nodig zijn om de proefdiervrije innovatie versneld door de keten te loodsen (versnelling van het proces van validatie, acceptatie en implementatie). Wij vragen u hiervoor een concreet plan van aanpak op te (doen) stellen en hierbij het perspectief van de transitiekunde (zie advies Denktank Aanvullende Financiering alternatieven voor dierproeven; eveneens bijgaand) en het internationale perspectief te (blijven) hanteren.

Onze referentie
1194440

Beide trajecten vormen in onze ogen samen de Agenda Proefdiervrije Innovatie.

Gezamenlijk optrekken met het veld

Wij vragen u de agenda in samenwerking met het veld uit te werken. Dat wil zeggen met wetenschappers, maar ook met NGO's (zoals patiëntenorganisaties en dierenbelangen-verenigingen; zie ook hiervoor het NCad-advies), transitiedeskundigen, NWO en VSNU. Tevens vragen wij u de Jonge Akademie te betrekken én diverse toonaangevende innovatieve wetenschappers binnen de relevante domeinen. Het is essentieel dat de agenda mede wordt ontwikkeld door de voorlopers binnen het betreffende domein. Het is eveneens van groot belang om zoveel mogelijk aansluiting te zoeken bij de Nationale Wetenschapsagenda (NWA) en – waar mogelijk - ook bij het topsectorenbeleid en hierin nauw samen te werken en af te stemmen met ZonMw. Binnen de NWA zijn in ieder geval de volgende routes relevant in het kader van proefdiervrije innovatie:

- Personalised Medicine: uitgaan van het individu;
- Regeneratieve Geneeskunde: game changer op weg naar brede toepassing;
- Gezondheidszorgonderzoek, preventie en behandeling;
- NeuroLabN: dé werkplaats voor hersen-, cognitie en gedragsonderzoek;
- Waardecreatie door verantwoorde toegang tot en gebruik van big data;
- Duurzame productie van veilig en gezond voedsel.

Om te borgen dat de Agenda inderdaad de beste en meest kansrijke acties bevat, vragen wij u na opstelling hiervan een onafhankelijke audit of review te laten uitvoeren door (nog niet betrokken) gezaghebbende wetenschappers. Gezien het feit dat op basis van de agenda de komende tien jaar door veel partijen aan de realisatie gewerkt gaat worden is dit van groot belang.

De Agenda Proefdiervrije Innovatie dient niet beperkt te blijven tot een gezamenlijke intentieverklaring, of een brede algemene afsprakenlijst. Daarom vragen wij u beiden om u te richten op het bereiken van een akkoord over concrete, ambitieuze, maar haalbare doelstellingen, waarbij onderscheid wordt gemaakt tussen de verschillende onderzoeksgebieden en de daarvoor gestelde heldere transitiedoelen. De ondertekenaars committeren zich om zich in de komende tien jaar in te zetten voor de realisatie van de transitiedoelen.

Wij adviseren iedere betrokkene om in het kader van de uitwerking, voor zover er sprake dient te zijn van financiële middelen voor activiteiten, ten volle de mogelijkheden te benutten die zowel het ministerie van Economische Zaken in het kader van innovatie als het ministerie van Onderwijs, Cultuur en Wetenschap op het gebied van wetenschapsbeleid in vigerende subsidiekaders in algemene zin beschikbaar stelt en indien mogelijk ook financieringsbronnen van andere partijen te benutten. In dit verband wijzen wij op het advies van de Denktank Aanvullende Financiering alternatieven voor dierproeven, waarin een uitgebreide opsomming van beschikbare financieringsbronnen is opgenomen.

Onze referentie
1194440

Tot slot zal aan ZonMw en de Stichting Proefdiervrij gevraagd worden te bezien hoe de implementatie van het advies van de Denktank Aanvullende Financiering alternatieven voor dierproeven het transitieproces naar proefdiervrij onderzoek maximaal kan ondersteunen.

Tijdspad

Wij verzoeken u om op 1 december 2017 de pilots uitgevoerd te hebben en uiterlijk 1 juni 2018 de uitgewerkte Agenda Proefdiervrije Innovatie gereed te hebben.

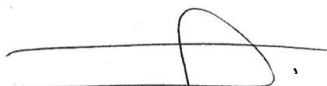
Deze brief is ook gestuurd naar de voorzitter van het bestuur van het Nationaal Comité advies dierproevenbeleid, de heer H. Koëter.

Wij wensen u veel succes!

Met vriendelijke groet,



Martijn van Dam
Staatssecretaris van Economische Zaken



Sander Dekker
Staatssecretaris van Onderwijs, Cultuur
en Wetenschap