

|            |                                      |                        |             |               |                          |               |               |               |             |
|------------|--------------------------------------|------------------------|-------------|---------------|--------------------------|---------------|---------------|---------------|-------------|
|            | <b>Inventaris Wob-verzoek W15-12</b> |                        |             |               |                          |               |               |               |             |
|            |                                      |                        |             |               |                          |               |               |               |             |
|            |                                      | <b>wordt verstrekt</b> |             |               | <b>weigeringsgronden</b> |               |               |               |             |
| <b>nr.</b> | <b>document</b>                      | <b>reeds openbaar</b>  | <b>niet</b> | <b>geheel</b> | <b>deels</b>             | <b>10.1.c</b> | <b>10.2.e</b> | <b>10.2.g</b> | <b>11.1</b> |
|            | <b>NTS 2015135</b>                   |                        |             |               |                          |               |               |               |             |
| 1          | Aanvraagformulier                    |                        |             |               | x                        |               | x             | x             |             |
| 2          | Niet-technische samenvatting         | x                      |             |               |                          |               |               |               |             |
| 3          | Voorblad projectaanvraag             |                        |             |               | x                        |               | x             | x             |             |
| 4          | Projectvoorstel                      |                        |             | x             |                          |               |               |               |             |
| 5          | Bijlage beschrijving dierproeven     |                        |             | x             |                          |               |               |               |             |
| 6          | DEC-advies                           |                        |             |               | x                        |               | x             | x             |             |
| 7          | Ontvangstbevestiging                 |                        |             |               | x                        |               | x             | x             |             |
| 8          | Brief aanvullen aanvraag             |                        |             |               | x                        |               | x             | x             |             |
| 9          | Aanvulling aanvraag                  |                        |             |               | x                        |               | x             | x             |             |
| 10         | Advies CCD                           |                        | x           |               |                          |               |               |               | x           |
| 11         | Beschikking en vergunning            |                        |             |               | x                        |               | x             | x             |             |



## Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

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

### 1 Gegevens aanvrager

|     |                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                      |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.1 | Heeft u een deelnemernummer van de NVWA?<br><i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>                          | <input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in 10800<br><input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen                                                                          |                                                                                                                                                      |
| 1.2 | Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.                                                                                 | Naam instelling of organisatie<br>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde<br>KvK-nummer<br>Straat en huisnummer<br>Postbus<br>Postcode en plaats<br>IBAN<br>Tenaamstelling van het rekeningnummer | Universiteit Utrecht<br>[Redacted]<br>3 0 2 7 5 9 2 4<br>[Redacted]<br>[Redacted] Utrecht<br>NL27INGB0000425267<br>Universiteit Utrecht              |
| 1.3 | Vul de gegevens van het postadres in.<br><i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i> | (Titel) Naam en voorletters<br>Functie<br>Afdeling<br>Telefoonnummer<br>E-mailadres                                                                                                                           | <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.<br>[Redacted]<br>Universitair Docent<br>[Redacted]<br>[Redacted]<br>[Redacted] |
| 1.4 | Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.                                                                                                                  | (Titel) Naam en voorletters<br>Functie<br>Afdeling<br>Telefoonnummer<br>E-mailadres                                                                                                                           | <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.<br>[Redacted]<br>[Redacted]<br>[Redacted]<br>[Redacted]                        |
| 1.5 | <i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.                                                                        | (Titel) Naam en voorletters<br>Functie<br>Afdeling<br>Telefoonnummer<br>E-mailadres                                                                                                                           | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.<br>[Redacted]<br>[Redacted]<br>[Redacted]<br>[Redacted]                                   |

|                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                 |                                                            |         |  |          |  |                |  |             |  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------|--|----------|--|----------------|--|-------------|--|
| 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning. | <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">(Titel) Naam en voorletters</td> <td style="width: 50%;"><input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td></td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td></td> </tr> </table> | (Titel) Naam en voorletters                                                                                     | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. | Functie |  | Afdeling |  | Telefoonnummer |  | E-mailadres |  |
| (Titel) Naam en voorletters                                                                                                                                              | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                 |                                                            |         |  |          |  |                |  |             |  |
| Functie                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                 |                                                            |         |  |          |  |                |  |             |  |
| Afdeling                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                 |                                                            |         |  |          |  |                |  |             |  |
| Telefoonnummer                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                 |                                                            |         |  |          |  |                |  |             |  |
| E-mailadres                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                 |                                                            |         |  |          |  |                |  |             |  |
| 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?                                                                                                                     | <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td><input type="checkbox"/> Ja &gt; Stuur dan het ingevulde formulier <i>Melding Machtiging</i> mee met deze aanvraag</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/> Nee</td> </tr> </table>                                                                                                                              | <input type="checkbox"/> Ja > Stuur dan het ingevulde formulier <i>Melding Machtiging</i> mee met deze aanvraag | <input checked="" type="checkbox"/> Nee                    |         |  |          |  |                |  |             |  |
| <input type="checkbox"/> Ja > Stuur dan het ingevulde formulier <i>Melding Machtiging</i> mee met deze aanvraag                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                 |                                                            |         |  |          |  |                |  |             |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> Nee                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                 |                                                            |         |  |          |  |                |  |             |  |

## 2 Over uw aanvraag

|                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                         |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2.1 Wat voor aanvraag doet u?                                                                                                                                                                | <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/> Nieuwe aanvraag &gt; Ga verder met vraag 3</td> </tr> <tr> <td> <input type="checkbox"/> Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn<br/> Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2 </td> </tr> <tr> <td> <input type="checkbox"/> Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn<br/> Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3 </td> </tr> </table> | <input checked="" type="checkbox"/> Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3                                                                                                                  | <input type="checkbox"/> Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn<br>Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2 | <input type="checkbox"/> Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn<br>Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                         |
| <input type="checkbox"/> Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn<br>Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                         |
| <input type="checkbox"/> Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn<br>Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                         |
| 2.2 Is dit een <i>wijziging</i> voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?                                                                                       | <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td><input type="checkbox"/> Ja &gt; Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/> Nee &gt; Ga verder met vraag 3</td> </tr> </table>                                                                                                                                                                                                                      | <input type="checkbox"/> Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier | <input checked="" type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                         |
| <input type="checkbox"/> Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                         |
| <input checked="" type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                         |
| 2.3 Is dit een <i>melding</i> voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?                                                                                         | <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/> Nee &gt; Ga verder met vraag 3</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Ja &gt; Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6</td> </tr> <tr> <td style="height: 100px;"></td> </tr> </table>                                                                                                                                                                                                                                                                                | <input checked="" type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3                                                                                                                              | <input type="checkbox"/> Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6                                                                                               |                                                                                                                                                                                         |
| <input checked="" type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                         |
| <input type="checkbox"/> Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                         |
|                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                         |

## 3 Over uw project

|                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |            |                     |           |                               |             |                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|---------------------|-----------|-------------------------------|-------------|---------------------------|
| 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?                                                                                      | <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">Startdatum</td> <td style="width: 50%;">0 1 _ 0 7 _ 2 0 1 5</td> </tr> <tr> <td>Einddatum</td> <td>0 1 _ 0 7 _ 2 0 2 0</td> </tr> </table>                                                                    | Startdatum | 0 1 _ 0 7 _ 2 0 1 5 | Einddatum | 0 1 _ 0 7 _ 2 0 2 0           |             |                           |
| Startdatum                                                                                                                                       | 0 1 _ 0 7 _ 2 0 1 5                                                                                                                                                                                                                                                                                           |            |                     |           |                               |             |                           |
| Einddatum                                                                                                                                        | 0 1 _ 0 7 _ 2 0 2 0                                                                                                                                                                                                                                                                                           |            |                     |           |                               |             |                           |
| 3.2 Wat is de titel van het project?                                                                                                             | Een in vitro endometrium model voor toxicologisch onderzoek                                                                                                                                                                                                                                                   |            |                     |           |                               |             |                           |
| 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?                                                                                         | Een in vitro endometrium model voor toxicologisch onderzoek                                                                                                                                                                                                                                                   |            |                     |           |                               |             |                           |
| 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt? | <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">Naam DEC</td> <td style="width: 50%;">DEC Utrecht</td> </tr> <tr> <td>Postadres</td> <td>Postbus 85500 3508 GA Utrecht</td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td>dec-utrecht@umcutrecht.nl</td> </tr> </table> | Naam DEC   | DEC Utrecht         | Postadres | Postbus 85500 3508 GA Utrecht | E-mailadres | dec-utrecht@umcutrecht.nl |
| Naam DEC                                                                                                                                         | DEC Utrecht                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |            |                     |           |                               |             |                           |
| Postadres                                                                                                                                        | Postbus 85500 3508 GA Utrecht                                                                                                                                                                                                                                                                                 |            |                     |           |                               |             |                           |
| E-mailadres                                                                                                                                      | dec-utrecht@umcutrecht.nl                                                                                                                                                                                                                                                                                     |            |                     |           |                               |             |                           |

## 4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?
- ☒ Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 741,00 Lege
- ☐ Wijziging € 468,00 Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
- ☐ Via een eenmalige incasso
- ☒ Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*

## 5 Checklist bijlagen

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

## 6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:
- Centrale Commissie  
Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag
- Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.6). De ondergetekende verklaart:
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
  - dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
  - dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
  - dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
  - dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam

Functie

Plaats

Datum

Handtekening

5 - 06 - 2015



Centrale Commissie Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK s-GRAVENHAGE

bezoekadres

postadres

uw kenmerk  
ons kenmerk

datum 5 juni 2015  
onderwerp Aanvraag projectvergunning

Mijne Dames en Heren,

Bijgaand zend ik u een projectvergunningaanvraag.

#### Correspondentieadres

Ik verzoek u vriendelijk de correspondentie aan portefeuillehouder te verzenden aan [REDACTED]. Daarvoor kan in de adressering direct onder de naam van de portefeuillehouder worden vermeld: t.a.v. [REDACTED].

#### Facturering

De vergunninghouder zal de leges voor de bijgaande aanvraag voldoen aan de CCD na ontvangst van de factuur. U kunt op de factuur het onderstaande factuuradres gebruiken en daarbij het vetgedrukte grootboeknummer vermelden.

#### **Factuuradres**

[REDACTED]

Ik verzoek u vriendelijk de factuur digitaal in te dienen. Via die route kunnen de leges het snelst worden voldaan. Hiervoor kunt u gebruik maken van het volgende e-mail adres:

[REDACTED]

Het ondertekende aanvraagformulier is u per separate post toegezonden op 5 juni 2015.

[REDACTED]



## Format Projectvoorstel dierproeven

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

### 1 Algemene gegevens

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

### 2 Categorie van het project

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

### 3 Algemene projectbeschrijving

#### 3.1 Achtergrond

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

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

In dit project wordt een in vitro endometrium model opgezet I) waarmee endometriale effecten zoals die in vivo worden gevonden beter mechanistisch onderzocht kunnen worden II) wat gebruikt kan worden bij toekomstige toxicologische risicobeoordeling van hormoonverstorende stoffen. Ziektes van de baarmoeder, zoals baarmoederkanker of endometriose, is een relatief veel voorkomende ziekte bij vrouwen in de Westerse wereld. Met 5% van de nieuwe kankergevallen bij vrouwen per jaar is endometrium kanker de vierde meest voorkomende kanker bij vrouwen in Europa [GLOBO2015]. Endometriose treft zo'n 5-10% van de vrouwen in de vruchtbare leeftijd [Bulletini2010]. De oorzaak van deze endometrium ziektes zijn echter nog niet altijd opgehelderd, maar het is algemeen geaccepteerd dat (verstoring van) de hormoonhuishouding een belangrijke rol speelt in het ontstaan van deze aandoeningen. Dagelijks worden mensen blootgesteld aan stoffen die de hormoonhuishouding kunnen verstoren, bijvoorbeeld via voedsel. Om de gezondheid van vrouwen te kunnen beschermen is het dus belangrijk om te kunnen onderzoeken of en hoe deze stoffen de normale werking van het endometrium kunnen beïnvloeden. Zo'n toxicologische risicobeoordeling van (hormoonverstorende) stoffen wordt tot nu toe voornamelijk gedaan met in vivo studies bij ratten naar bijvoorbeeld reproductie of carcinogene effecten. Daarbij worden regelmatig endometriale tumoren, endometriale hyperplasie en endometriose gevonden. Om goed te kunnen onderzoeken hoe deze endometriale effecten ontstaan, wordt in dit project een in vitro endometrium model opgezet met rattencellen. Hierin kan beter gekeken worden naar cel-cel communicatie en responsen van endometriumcellen als gevolg van (in vitro) blootstelling aan hormonen en lichaamsvreemde, hormoonverstorende stoffen. Omdat het vanuit de literatuur onduidelijk is hoe groot de invloed van endogene hormonen is op de respons in endometriale cellen [Arslan1995; Piva1996; Groothuis2007], zal in een pilot studie eerst het effect van ovariectomie voorafgaand aan de endometrium isolatie worden onderzocht. Daartoe zullen endometriale cellen worden geïsoleerd van ratten die ovariectomie hebben ondergaan en ratten waarbij dat niet is uitgevoerd. Veranderingen in biomarkers (zoals expressie van hormoonreceptoren en afgifte van hormonen en chemokines) na in vitro blootstelling aan hormonen zullen worden bepaald in de celkweken afkomstig van endometria met/zonder ovariectomie en worden beoordeeld op fysiologische relevantie. Nadat normale hormoonresponsen zijn vastgesteld, zal worden besloten of ovariectomie noodzakelijk is voor het in vitro model. Hierna wordt de methode vastgesteld en kan het in vitro endometriummodel gebruikt worden voor het testen van verstorende effecten van lichaamsvreemde stoffen. De uitkomsten van het vitro endometriummodel kunnen vervolgens voor bekende hormoonverstorende stoffen worden vergeleken met bestaande in vivo data(bases) waarin endometriale effecten bij ratten worden beschreven, zoals bijvoorbeeld voor dioxine-achtige stoffen [Walker2006; Yoshizawa2009]. Indien het in vitro endometrium model voldoende voorspellend lijkt te zijn voor in vivo effecten, zal het gebruikt worden voor het testen van hormoonverstorende stoffen waarvan de endometriale effecten nog niet bekend zijn.

Om in de toekomst voor onbekende stoffen het risico op endometriale effecten te kunnen voorspellen zijn modellen nodig, welke bij voorkeur in vitro zijn met het oog op de ethische noodzaak tot vermindering van het aantal proefdieren en huidige kosten voor toxicologisch onderzoek onder de Europese wetgeving. Het IRAS werkt op internationaal niveau aan het ontwikkelen, valideren en implementeren van alternatieve testmethodes in toxicologische risicobeoordeling. Het inzetten van in vitro modellen bespaart niet alleen proefdieren, maar heeft ook mechanistisch, wetenschappelijk veel meerwaarde. Hormoonlevels kunnen in vitro makkelijker gecontroleerd en gemoduleerd worden, waardoor hormoonverstorende effecten met grotere zekerheid kunnen worden vastgesteld dan op



basis van in vivo studies. Een probleem is echter dat huidige (toxicologische) risicobeoordeling van chemische stoffen tot nu toe nog voornamelijk gedaan wordt met in vivo studies bij ratten en/of muizen, ondanks dat de vertaalbaarheid hiervan naar de humane situatie niet altijd duidelijk is. Bij deze studies worden regelmatig endometriale effecten van hormoonverstorende stoffen gevonden. Echter, gezien de verschillen in hormoonhuishouding tussen rat en mens is het maar de vraag wat de humane relevantie is van de endometriale effecten bij ratten. Dit is tot nu toe nog niet goed onderzocht. Om deze vraag goed te kunnen onderzoeken en mechanistisch te kunnen beantwoorden wordt binnen dit project ook een in vitro endometrium model opgezet met humane cellen volgens de methode van Chen et al. [Chen2013]. Data uit het ratten endometriummodel kunnen vergeleken worden met bestaande vivo data(bases), data van het humane celmodel kan voor bekende stoffen (zoals dioxines) met epidemiologische data vergeleken worden. Op deze manier kunnen de effecten die in vivo bij ratten gevonden worden mechanistisch beter onderzocht worden en levert het informatie op mbt de vertaalbaarheid naar de humane situatie. De resultaten uit het ratten en humane endometriummodel zullen ook worden vergeleken vwb voorspelbaarheid/toepasbaarheid, haalbaarheid (verkrijgen van weefsel) en reproduceerbaarheid. Het meest geschikte model kan in de toekomst worden gebruikt om een toxicologische risicoschatting te maken voor endometriale effecten van lichaamsvreemde stoffen. In dit project willen we zo een uitspraak doen over toepasbaarheid en voorspelbaarheid van het ratten en humane in vitro endometriummodel. De verwachting is dat het humane model prevaleert boven het ratten model, zodat deze toegepast kan worden voor testen van stoffen en er geen verdere studies met rattenendometrium meer nodig zijn. De kennis uit dit project zal verder bijdragen aan het voorkomen van endometriale effecten bij mensen als gevolg van blootstelling aan hormoonverstorende stoffen en het verminderen van proefdieren in toxicologische risicobeoordeling. NB voor het gebruik van humane primaire cellen wordt bij de Medisch Ethische Toetsingscommissie toestemming gevraagd.

### 3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

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

Het doel van het project is om een in vitro endometrium model te maken waarin de hormonale effecten van lichaamsvreemde stoffen getest kunnen worden. Daartoe zullen in vitro modellen gemaakt en getest worden met primaire humane en ratten endometrium cellen. Het ratten-model is nodig om de voorspellende waarde en toepassing van het model te valideren aan de hand van bestaande in vivo data(bases) van bekende stoffen. Binnen dit project zal ook een in vitro endometrium model opgezet worden met humane endometrium cellen. Na vergelijking en validatie van deze twee modellen kan het meest geschikte in vitro endometrium model gebruikt worden voor het onderzoeken van endometriale effecten van (chemische) stoffen en medicijnen. Dit is nodig voor het efficiënt testen van mogelijk toxische stoffen, zonder onnodig gebruik van proefdieren. Het IRAS heeft ruime ervaring met in vitro modellen, isoleren en kweken van primaire cellen (waaronder ratten endometrium cellen) en toxicologische risicobeoordeling. Het project bevat enkele beslismomenten en mijlpalen, waardoor het opzetten van een in vitro endometrium model, zoals beoogd in dit voorstel, haalbaar is binnen de gestelde tijd.

### 3.3 Belang

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

Door het ontwikkelen en uitvoeren van dit in vitro model kan meer kennis verkregen worden mbt de normale werking van het endometrium, alsmede de effecten van lichaamsvreemde stoffen op deze werking. Een in vitro endometrium model kan ingezet worden bij de toxicologische risicobeoordeling van lichaamsvreemde stoffen, zoals chemische en/of plantengestoffen, hormoonachtige stoffen en medicijnen.

### 3.4 Onderzoeksstrategie

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

Voor het opzetten van een in vitro co-cultuur endometrium model zijn epitheliale en stromale endometriumcellen nodig van jong volwassen vrouwelijke Sprague-Dawley ratten (~P35). De keuze voor Sprague Dawley is gebaseerd op in vivo studies waarin bij deze rattensoort kanker aan de uterus ontstaat na blootstelling aan de natuurlijke plantenstof indole-3-carbinol [NTP2014] en dioxines [Yoshizawa2009].

Na acclimatiseren, worden de ovaria verwijderd om endogene, ovariële hormoon productie te stoppen. Dit wordt gedaan omdat de endometrium cellen in vitro zullen worden gebruikt voor het onderzoeken van hormonale effecten. Daarbij is het noodzakelijk dat de cellen geen invloed van endogene hormonen ondervinden en in verschillende stadia van hormonale gevoeligheid verkeren. Het synchroniseren van de cyclus kan dit waarschijnlijk slechts gedeeltelijk bereiken: op basis van vaginale cytologie kan de cyclus status met redelijke zekerheid bepaald worden, maar vaginale cytologie komt niet goed overeen met hormoon gehalten in bloed [Singletary2005]. Daarnaast is chemische synchronisatie, bv door injectie van hormonen, ongewenst ivm de toxicologische toepassing. Het synchroniseren van estrous cycle dmv plaatsen van een mannetjes dier (Whitten effect) lijkt bij vrouwelijke ratten die samen gehuisvest zijn niet/minder sterk op te treden, in tegenstelling tot bij muizen [Sharpe1998; Schank2004]. Daarnaast leidt synchronisatie van de estrous cyclus alsnog niet tot afwezigheid van lokale, ovariële productie van hormonen, waardoor nog steeds grote variatie in celstatus op kan treden.

Tien dagen na ovariectomie, worden de dieren geëuthanaseerd en de uteri verwijderd. Cellen worden geïsoleerd en gescheiden door enzymatische bewerking en centrifugatie zoals beschreven door [Piva1996]. Bij de eerste sectie zal onderzocht worden in hoeverre ovariectomie effect heeft op de hormonale gevoeligheid van de endometriumcellen in het beoogd in vitro endometrium model. Hiertoe zullen endometriale cellen geïsoleerd worden van 6 dieren mét ovariectomie en 6 dieren zonder ovariectomie waarbij estrous status wordt vastgesteld dmv vaginale cytologie (voor onderbouwing aantallen zie Bijlage Beschrijving Dierproef).

De cellen zullen vervolgens gebruikt worden voor het optimaliseren van celisolatie methode, in vitro kweekopzet en vaststellen van meetbare biomarkers dmv genexpressie, hormoon- en chemokine bepaling. Tevens zal in deze eerste isolatie de invloed van vrouwelijke geslachtshormonen (i.e. estradiol en progesteron) op deze biomarkers onderzocht worden.

Na de eerste sectie zal worden besloten of ovariectomie noodzakelijk is of dat vaginale cytologie volstaat. Op basis hiervan wordt het protocol vastgesteld voor de behandeling van de dieren en de in vitro methode inclusief de eindparameters. Deze vastgestelde methode zal vervolgens gebruikt worden bij volgende proeven. Deze zullen waarschijnlijk bestaan uit secties van 15 dieren, al hangt dit af van de celopbrengst per uterus (zie ook Bijlage Beschrijving Dierproef, punt 2A).

---

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

---

Opzetten van in vitro endometrium model (pilot): ovariectomie, euthanasie en hysterectomie rat.

Testen van hormoonversturende stoffen met bekende endometriale effecten (validatie): (mogelijk ovariectomie) euthanasie en hysterectomie rat.

Testen van hormoonversturende stoffen met onbekende, maar verwachte endometriale effecten: (mogelijk ovariectomie) euthanasie en hysterectomie rat.

---

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

---

Er zullen per keer zo'n 12-15 ratten gebruikt worden voor isolatie van endometrium. De resultaten van de eerste sectie zullen gebruikt worden voor (verder) optimaliseren van cel isolatie, kweek- en meetmethodes. In deze sectie wordt ook de noodzaak van ovariectomie onderzocht. Ratten uit volgende secties worden ingezet voor testen van endometriale effecten van lichaamsvreemde, hormoonversturende stoffen. Eerst zullen stoffen getest worden waarvan bekend is dat ze endometriale effecten in vivo veroorzaken, zoals dioxines en I3C. Als het model goed werkt zullen er meer stoffen, waarvan de werking nog niet geheel duidelijk is, worden getest.

---

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

| Volgnummer | Type dierproef                                    |
|------------|---------------------------------------------------|
| 1          | Ovariectomie en, na euthanasie, hysterectomie rat |
| 2          |                                                   |
| 3          |                                                   |
| 5          |                                                   |
| 6          |                                                   |
| 7          |                                                   |
| 8          |                                                   |
| 9          |                                                   |
| 10         |                                                   |



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

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

#### 1 Algemene gegevens

|     |                                                  |                      |                                                  |
|-----|--------------------------------------------------|----------------------|--------------------------------------------------|
| 1.1 | Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.           | 10800                |                                                  |
| 1.2 | Vul de naam van de instelling of organisatie in. | Universiteit Utrecht |                                                  |
| 1.3 | Vul het volgnummer en het type dierproef in.     | Volgnummer           | Type dierproef                                   |
|     |                                                  | 3.4.4.1              | Ovariectomie en, na euthansie, hysterectomie rat |

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

#### 2 Beschrijving dierproeven

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

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

In de studie wordt een in vitro endometrium model opgezet. Hiertoe isoleren we endometriale (epitheliale en stromale) cellen uit uteri van (jong) volwassen vrouwtjes ratten. Endometriumcellen zullen na isolatie in vitro gekweekt en blootgesteld worden aan hormonen en teststoffen. Mogelijk leveren endogene hormonen te veel variatie in celstatus en responsiviteit om de effecten van hormoonverstorende stoffen te kunnen testen in vitro. De literatuur is hierover niet eenduidig [Arslan1995; Piva1996; Groothuis2007]. Daarom zal in de eerste sectie bepaald worden of het noodzakelijk is een ovariectomie (volgens [Piva1996]) uit te voeren, 10 dagen voor euthanasie en hysterectomie. Indien de cellen vergelijkbare responsen (vwb hormoon- en chemokine secretie, genexpressie) laten zien, zal ervoor gekozen worden in volgende secties geen ovariectomie uit te voeren maar alleen een bepaling van estrous status dmv

vaginale cytologie. Het lichaamsgewicht van de ratten wordt gemonitord.

Na in vitro blootstelling worden verschillende parameters bepaald, waaronder hormoon- en chemokine secretie, genexpressie en aromatase activiteit.

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

Na acclimatiseren wordt een ovariectomie uitgevoerd. Dit gebeurt onder algehele narcose. Naar schatting duurt dit ongeveer 0.5 uur per rat. Na 10 dagen zullen de dieren worden geëuthanaseerd.

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

Uit eerdere experimenten in ons lab blijkt dat er minimaal 10-15x10E6 stromale en epitheliale cellen geïsoleerd kunnen worden uit 6 uteri [Ede2010]. De schatting van 225 dieren is gebaseerd op het aantal cellen wat nodig is voor het opzetten (optimaliseren) van het in vitro model en het testen van stoffen. Hierbij is uitgegaan van 12-15 dieren per sectie, wat ongeveer twee 12-wells platen aan endometrium cellen oplevert. Het exacte aantal dieren en cellen zal worden vastgesteld na de eerste sectie tbv optimalisatie. In twee 12-wells platen kunnen 8 blootstellingen in triplo worden uitgevoerd, wat betekent dat per sectie een negatieve (vehicle) en positieve (alleen hormonen) controle en twee stoffen in 3 concentraties in triplo getest kunnen worden. Tervergelijking: in vivo zou 15 dieren maximaal voldoende zijn voor 3 experimentele groepen (bv 1 controle en 2 doses van een teststof).

In de eerste sectie van 15 dieren (pilot) zal het effect van ovariectomie en in vitro blootstelling aan hormonen op endometriale biomarkers worden onderzocht [vanEde2010; Chen2013]. Op basis van deze uitkomsten wordt besloten of het noodzakelijk is voorafgaand aan een volgende sectie een ovariectomie uit te voeren. Na vaststellen van het optimale protocol/methode zullen effecten van lichaamsvreemde, hormoonverstorende stoffen getest worden in het in vitro endometriummodel, waaronder dioxines (bv tetrachloro-p-dibenzodioxine; TCDD), natuurlijke plantenstoffen die vergelijkbaar werkingsmechanisme lijken te hebben (bv indole-3-carbinol; I3C) en andere hormoonverstorende stoffen. De keuze van de stoffen is gebaseerd op eerder gevonden endometriale effecten in vivo [NTP2014] en toxicologische relevantie bij mensen [Simsa2010]. In totaal verwachten we op basis van bovengenoemde getallen, 6-8 secties uit te voeren, waarbij we 1 sectie ter optimalisatie (pilot) gebruiken en 5-7 secties uit voeren voor het testen van hormoonverstorende stoffen, waarvan we weten dat ze in vivo endometriale effecten veroorzaken. Als blijkt dat het in vitro model goed werkt, zullen ook stoffen worden getest in het in vitro model waarvan we nog niet goed de endometriale effecten weten. In dat geval zullen we nog eens 5-7 secties uit voeren. In totaal verwachten we dus 11-15 secties uit te voeren met 12-15 dieren per sectie. Dit levert een totaal beoogd aantal ratten op van 180-225.

## B. De dieren

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

225 Harlan Sprague Dawley ratten, jong volwassen vrouwtjes (~P35) voor het verkrijgen van voldoende endometriale cellen tbv in vitro testen van hormoonverstorende stoffen.

## C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

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

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

☒ Nee

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

#### D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

De uteri van de vrouwtjes ratten worden gebruikt voor het opzetten en toepassen van een in vitro endometrium model. Parallel zal ook een in vitro endometrium model met humane endometrium cellen gebruikt worden. Op basis van de uitkomsten van dit project zal een model gekozen worden wat voor toekomstig toxicologisch onderzoek gebruikt kan worden. Het is aannemelijk dat het meest humaan relevante endometriummodel zal bestaan uit het in vitro endometrium model met primaire humane cellen. Humaan gezondheidsschadelijke effecten kunnen dan in de toekomst onderzocht worden in dit in vitro model in plaats van in een in vivo ratten model (vervanging). Door het in vitro opkweken van de endometrium cellen kunnen meerdere doseringen en stoffen getest worden met (uteri van) 1 rat (vermindering). Daarnaast is de opbrengst in aantal cellen bij een rat hoger dan bij muizen, waardoor er minder dieren (aantallen) nodig zijn (vermindering). De keuze voor Sprague-Dawley ratten is gebaseerd op het feit dat veel toxicologische testen worden uitgevoerd met deze dier(soort) [bv NTP2014]. Daarnaast worden de dieren niet in vivo blootgesteld (verfijning). Tevens onderzoeken we eerst of ovariectomie daadwerkelijk noodzakelijk is voor het in vitro gebruik van endometriale cellen, of dat er een andere mogelijkheid is om effecten van endogene hormonen te vermijden (verfijning).

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

De dieren zullen in groepen worden gehuisvest met beschikking tot kooiverrijking. Ovariectomie gebeurt onder volledige narcose volgens GDL protocol. Hierbij worden twee kleine incisies gemaakt. Dit heeft de voorkeur boven 1 incisie in via de linea alba, aangezien dat een grotere incisie is wat meer risico op infectie oplevert en meer belasting van de buikorganen.

### Herhaling en duplicering

#### E. Herhaling

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

nvt

### Huisvesting en verzorging

#### F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

## Ongeriefinschatting / humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

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

☐ Nee > Ga verder met vraag I.

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

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

☒ Ja

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

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Experimentele handeling (ovariectomie, euthanasie)

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

ongerief na chirurgische ingreep (ovariectomie)

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

Ovariectomie wordt onder algehele narcose uitgevoerd. Nazorg en controle zal worden uitgevoerd om eventueel ongerief te signaleren en doeltreffend te kunnen behandelen. Euthanasie zal met minimale belasting worden uitgevoerd.

### J. Humane eindpunten

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

☐ Nee > Ga verder met vraag K.

☒ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

gewichtsverlies en verandering gedrag/lichaamshouding.

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

1%

#### **K. Classificatie van ongerief**

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

licht

### **Einde experiment**

#### **L. Wijze van doden**

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

☐ Nee > Ga verder met de ondertekening.

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

organen worden gebruikt voor isolatie van cellen/in vitro kweken

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

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

☒ Ja



**A. Algemene gegevens over de procedure**

1. Aanvraagnummer : 2015.II.814.005  
2. Titel van het project : Een in vitro endometrium model voor toxicologisch onderzoek  
3. Titel van de NTS : Een in vitro baarmoeder model voor toxicologisch onderzoek

## 4. Type aanvraag:

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

## 5. Contactgegevens DEC

Naam DEC : DEC Utrecht  
Telefoonnummer contactpersoon : 088 – 75 59 247  
Emailadres contactpersoon : dec-utrecht@umcutrecht.nl

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

- ☒ ontvangen door DEC: 17-04-2015  
☐ aanvraag compleet:  
☒ in vergadering besproken: 22-04-2015  
☒ anderszins behandeld: emailronde 07-05-2015  
☒ termijnonderbreking(en) van / tot : 28-04-2015 tot 06-05-2015  
☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:  
☐ aanpassing aanvraag:  
☒ advies aan CCD: 01-06-2015

## 7. Eventueel horen van aanvrager

- Datum:
- Plaats:
- Aantal aanwezige DEC-leden:
- Aanwezige (namens) aanvrager:
- Strekking van de vraag / vragen:
- Strekking van het (de) antwoord(en):
- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag:

## 8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: 28-04-2015
- Strekking van de vraag / vragen:

M.b.t. de NTS is de volgende vraag gesteld:

- 3.2 Opbrengsten project en wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang: De DEC verzoekt u eerst het primaire doel te vermelden. Graag aanpassen.

M.b.t. het projectvoorstel heeft de DEC de volgende vragen gesteld.

- 3.1, achtergrond: De DEC vraagt zich af of u ervan op de hoogte bent dat er reeds een alternatief bestaat voor het rattenmodel voor endometrium kweken, zie onderstaande referenties. Dit model zou nog veel minder proefdieren verbruiken, en in de referenties wordt zelfs gewerkt met humane endometrium organoid culturen, zodat proefdier gebruik geheel vermeden zou kunnen worden en resultaten van de in vitro proeven nog beter bij de humane situatie zouden aansluiten. De DEC vraagt zich af of u aan deze methode heeft gedacht en waarom deze al dan niet geschikt zou zijn. De DEC verzoekt u dit ook weer te geven in de projectaanvraag.
- 3.1, achtergrond: De DEC begrijpt dat u onder meer wilt onderzoeken of de ovariectomie effect heeft op de biomarkers. Dit wordt echter niet helemaal duidelijk uit uw tekst. Graag verhelderen.

Referenties:

A novel organotypic culture model for normal human endometrium: regulation of epithelial cell proliferation by estradiol and medroxyprogesterone acetate.

Bläuer M, Heinonen PK, Martikainen PM, Tomás E, Ylikomi T.

Hum Reprod. 2005 Apr;20(4):864-71. Epub 2005 Jan 21.

PMID: 15665014

Effects of tamoxifen and raloxifene on normal human endometrial cells in an organotypic in vitro model.

Bläuer M, Heinonen PK, Rovio P, Ylikomi T.

Eur J Pharmacol. 2008 Sep 11;592(1-3):13-8. doi: 10.1016/j.ejphar.2008.06.091. Epub 2008 Jul 2.

PMID: 18638473

- Datum antwoord: 07-05-2015
- Strekking van het (de) antwoord(en):

M.b.t. de NTS heeft de onderzoeker heeft de onderzoeker het primaire doel verduidelijkt en dit aangepast in de NTS.

M.b.t. het projectvoorstel heeft onderzoeker als volgt geantwoord:

- Onderzoeker is op de hoogte van het alternatieve model: zoals beschreven in de achtergrond (3.1) en doel (3.2) van het projectvoorstel, is het voorgestelde proefdier onderzoek onderdeel van een project waarbij ook een in vitro model wordt opgezet met primair humaan weefsel. Hiertoe wordt bij een METC een aanvraag ingediend voor het verkrijgen van premenopausaal endometrium weefsel. De beoogde methode volgens Chen et al (2013), waarnaar in de tekst wordt verwezen, is vergelijkbaar met de door de DEC gesuggereerde artikelen.

Onderzoeker is het geheel eens met de DEC dat de voorkeur uitgaat naar een humaan model, aangezien daarvoor geen proefdieren nodig zijn en de resultaten mogelijk beter

vertaalbaar zijn voor de humane situatie. Een probleem is echter dat de huidige (toxicologische) risicobeoordeling van chemische stoffen tot nu toe nog voornamelijk gedaan wordt met in vivo studies bij ratten en/of muizen, ondanks dat de vertaalbaarheid hiervan naar de humane situatie niet altijd duidelijk is. Bij deze studies worden regelmatig endometriale effecten van hormoonverstorende stoffen gevonden. Echter, gezien de verschillen in hormoonhuishouding tussen rat en mens is het maar de vraag wat de humane relevantie is van de endometriale effecten bij ratten. Dit is tot nu toe nog niet goed onderzocht. Om deze vraag goed te kunnen onderzoeken en mechanistisch te kunnen beantwoorden wordt binnen dit project ook een in vitro endometrium model opgezet met humane cellen volgens de methode van Chen et al. [Chen2013]. Data uit het ratten endometriummodel kunnen vergeleken worden met bestaande vivo data(bases), data van het humane celmodel kan voor bekende stoffen (zoals dioxines) met epidemiologische data vergeleken worden. Op deze manier kunnen de effecten die in vivo bij ratten gevonden worden mechanistisch beter onderzocht worden en levert het informatie op m.b.t. de vertaalbaarheid naar de humane situatie. De resultaten uit het ratten en humane endometriummodel zullen ook worden vergeleken v.w.b. voorspelbaarheid/toepasbaarheid, haalbaarheid (verkrijgen van weefsel) en reproduceerbaarheid. Het meest geschikte model kan in de toekomst worden gebruikt om een toxicologische risicoschatting te maken voor endometriale effecten van lichaamsvreemde stoffen. In dit project willen onderzoekers een uitspraak doen over toepasbaarheid en voorspelbaarheid van het ratten en humane in vitro endometriummodel. De verwachting is dat het humane model prevaleert boven het ratten model, zodat deze toegepast kan worden voor testen van stoffen en er geen verdere studies met rattenendometrium meer nodig zijn. De kennis uit dit project zal verder bijdragen aan het voorkomen van endometriale effecten bij mensen als gevolg van blootstelling aan hormoonverstorende stoffen en het verminderen van proefdieren in toxicologische risicobeoordeling. NB: voor het gebruik van humane primaire cellen wordt bij de Medisch Ethische Toetsingscommissie toestemming gevraagd. Bovenstaande informatie is toegevoegd aan 3.1 Achtergrond en ook in de NTS is dit verduidelijkt.

- De informatie over de pilot naar de noodzaak voor ovariectomie is als volgt uitgebreid: Omdat het vanuit de literatuur onduidelijk is hoe groot de invloed van endogene hormonen is op de respons in endometriale cellen [Arslan1995; Piva1996; Groothuis2007], zal in een pilot studie eerst het effect van ovariectomie voorafgaand aan de endometrium isolatie worden onderzocht. Daartoe zullen endometriale cellen worden geïsoleerd van ratten die ovariectomie hebben ondergaan en ratten waarbij dat niet is uitgevoerd. Veranderingen in biomarkers (zoals expressie van hormoonreceptoren en afgifte van hormonen en chemokines) na in vitro blootstelling aan hormonen zullen worden bepaald in de celkweken afkomstig van endometria met/zonder ovariectomie en worden beoordeeld op fysiologische relevantie. Nadat normale hormoonresponsen zijn vastgesteld, zal worden besloten of ovariectomie noodzakelijk is voor het in vitro model.

Hierna wordt de methode vastgesteld en kan het in vitro endometriummodel gebruikt worden voor het testen van versturende effecten van lichaamsvreemde stoffen.

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag: Ja

9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC)

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

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

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

**C. Beoordeling (inhoud):**

1. Het project is:

- ☒ uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord.
- ☐ uit onderwijskundig oogpunt verantwoord.
- ☐ uit het oogpunt van productiedoeleinden verantwoord.
- ☐ wettelijk vereist.

2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) zijn / is in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en).

3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een substantieel belang, omdat het onderzoek beoogt een celmodel van de baarmoeder te ontwikkelen, waarmee getest kan worden of chemische stoffen of medicijnen schadelijke effecten kunnen veroorzaken aan de baarmoeder, zodat maatregelen genomen kunnen worden om gezondheidsrisico's en ziektes van de baarmoeder bij vrouwen te voorkomen.

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen beschikt om de projectdoelstelling met de gekozen strategie/aanpak binnen de gevraagde termijn te realiseren.

5. Er is geen sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren:

- ☐ Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)

- ☐ Niet-menselijke primaten (10e)
- ☐ Dieren in/uit het wild (10f)
- ☐ Gefokt voor dierproeven (11)
- ☐ Zwerfdieren (10h)
- ☐ Hergebruik (1e lid 2)
- ☐ Huisvesting en verzorging
- ☐ Locatie: instelling vergunninghouder (10g)

De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd.

6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Het ongerief is inschat als licht. De dieren ondergaan een ovariectomie onder narcose dan wel vaginale cytologie voor het isoleren van endometriale cellen en worden 10 dagen nadien gedood. De dieren kunnen ongerief ondervinden van het verwijderen van de ovaria. Om die reden zullen de dieren na narcose goed gemonitord worden om eventueel ongerief tijdig te signaleren. Gezien de handelingen en het eventuele ongerief dat optreedt na ovariectomie is de DEC van mening dat dit een realistische inschatting is.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen. Naast het ontwikkelen van een baarmoeder celmodel met cellen van ratten wordt een vergelijkbaar baarmoeder model opgezet met cellen van mensen. De uitkomsten van het ratten-baarmoedermodel kunnen dan vergeleken worden met het humane-baarmoeder model om te onderzoeken of de ratten- en de humane cellen hetzelfde reageren op hormonen en chemische stoffen. Op basis van de uitkomsten van dit project zal een model gekozen worden wat voor toekomstig toxicologisch onderzoek gebruikt kan worden. Het is aannemelijk dat het humane baarmoeder celmodel het meest relevante model zal zijn. Humaan gezondheidsschadelijke effecten kunnen dan in de toekomst onderzocht worden in dit in vitro model in plaats van in een in vivo ratten model.
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de vermindering van dierproeven. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. De DEC is van mening dat het maximale aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en proportioneel is ten opzicht van de gekozen strategie en looptijd. Daarnaast wordt bij het baarmoeder celmodel gebruik gemaakt van primaire cellen. Dat betekent dat met cellen uit één rattenbaarmoeder meerdere stoffen in meerdere concentraties getest kunnen worden, waardoor minder proefdieren nodig zijn.
9. De DEC is van mening dat het project in overeenstemming is met de vereiste ten aanzien van de verfijning van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Er is gekozen voor de meest geschikte diersoort, namelijk Sprague-Dawley ratten. Veel toxicologische testen worden uitgevoerd met ratten en ook in het

laboratorium van de onderzoekers in deze studie is al ruime ervaring met het kweken van ratten baarmoedercellen. Hierdoor is het ook mogelijk resultaten uit voorgaande studies te gebruiken voor het efficiënt opzetten van dit celmodel. Daarnaast zullen de dieren niet aan in vivo experimenten worden blootgesteld en wordt eerst onderzocht of ovariectomie daadwerkelijk noodzakelijk is voor het isoleren van endometriale cellen, of dat deze door middel van vaginale cytologie geïsoleerd kunnen worden. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.

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

#### **D. Ethische afweging**

Op grond van de onder C genoemde overwegingen is de DEC unaniem van mening dat het belang van de doelstelling, namelijk het maken van een in vitro endometrium model waarin de hormonale effecten van lichaamsvreemde stoffen getest kunnen worden, substantieel is en opweegt tegen het lichte ongerief dat de dieren in dit onderzoek zullen ondervinden.

Subsidiar kan dit onderzoek bijdragen aan het verminderen van proefdieren in toxicologische risicobeoordeling of zelfs bijdragen aan een alternatieve methode voor deze risicobeoordeling. Het projectvoorstel is onderdeel van een project waarbij ook een in vitro model wordt opgezet met humane baarmoedercellen. De verwachting is dat het humane model prevaleert boven het ratten model, zodat deze in de toekomst toegepast kan worden voor het testen van stoffen en er geen verdere studies met rattenendometrium meer nodig zijn.

#### **E. Advies**

1. Advies aan de CCD

- ☐ De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
- De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is.
  - De volgende doorslaggevende ethische bezwaren.
  - De volgende tekortkomingen in de aanvraag.
- ☐ De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
- Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.
  - Voor de uitvoering van dit project is tevens een ministeriële ontheffing vereist.
  - Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden.
- ☒ De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht



**Centrale Commissie  
Dierproeven**

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

**Onze referentie**

Aanvraagnummer  
AVD108002015135

**Bijlagen**

2

Datum 08-06-2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte heer/mevrouw [REDACTED],

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 5 juni 2015.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD108002015135. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

**Wacht met de uitvoering van uw project**

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

**Factuur**

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

**Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur



### **Gegevens aanvrager**

#### Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 10800  
Naam instelling of organisatie: Universiteit Utrecht  
Naam portefeuillehouder of  
diens gemachtigde: [REDACTED]  
KvK-nummer: 30275924  
Postbus: [REDACTED]  
Postcode en plaats: [REDACTED] UTRECHT  
IBAN: NL27INGB0000425267  
Tenaamstelling van het  
rekeningnummer: Universiteit Utrecht

#### Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

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

**Over uw aanvraag**

Wat voor aanvraag doet u? ☒ Nieuwe aanvraag  
☐ Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn  
☐ Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

**Over uw project**

Geplande startdatum: 1 juli 2015  
Geplande einddatum: 1 juli 2020  
Titel project: Een in vitro endometrium model voor toxicologisch onderzoek  
Titel niet-technische samenvatting: Een in vitro endometrium model voor toxicologisch onderzoek  
Naam DEC: DEC Utrecht  
Postadres DEC: Postbus 85500 3508 GA Utrecht  
E-mailadres DEC: dec-utrecht@umcutrecht.nl

**Betaalgegevens**

De leges bedragen: € 741,-  
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

**Checklist bijlagen**

Verplichte bijlagen: ☒ Projectvoorstel  
☒ Beschrijving Dierproeven  
☒ Niet-technische samenvatting  
Overige bijlagen: ☒ DEC-advies

**Ondertekening**

Naam:   
Functie:   
Plaats: Utrecht  
Datum: 5 juni 2015



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht



**Centrale Commissie  
Dierproeven**

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

**Onze referentie**

Aanvraagnummer  
AVD108002015135

**Bijlagen**

2

Datum 08-06-2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**

Factuurdatum: 8 juni 2015

Vervaldatum: 8 juli 2015

Factuurnummer: 201570135

| Omschrijving                                                                     | Bedrag   |
|----------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Betaling leges projectvegrunning dierproeven<br>Betreft aanvraag AVD108002015135 | € 741,00 |

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL28RBOS 056.99.96.066 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 20401, 2500 EK te 's Gravenhage.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht



Nederland

**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)

[info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD108002015135

**Uw referentie**

**Bijlagen**  
geen

Datum 17-juni-2015

Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte mevrouw [REDACTED],

Op 05-juni-2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project met als titel 'Een in vitro endometrium model voor toxicologisch onderzoek, met aanvraagnummer AVD108002015135. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

**Welke informatie nog nodig**

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

U geeft aan tot 225 dieren nodig te hebben voor het onderzoek. Onderliggend heeft u aangegeven hoeveel groepen en aantallen per testgroep u nodig heeft. U geeft bij 3.4.1 in de projectaanvraag aan dat u in de eerste stap twee maal 6 dieren gebruikt en in de andere stappen ongeveer 15. Bij de experimentele aanpak in de Bijlage Dierproef begint u met de mededeling dat er uit 6 dieren een bepaald aantal cellen te halen valt. Verder gaat u uit van een hoeveelheid van 15 secties en 15 dieren per sectie. Daarmee is voor ons onduidelijk of de twee groepen met zes dieren in stap 1 nu wel of niet meegerekend zijn. Als dat niet zo is dan is het te verwachten aantal dieren hoger dan 225 en als dat wel zo is, dan is het onduidelijk of en waarom er dan van 6 (projectaanvraag) of 15 dieren (beschrijving dierproef) wordt uitgegaan en of en waarom dit gevolgen heeft voor het totaal aantal dieren.

Kunt u deze onduidelijkheid toelichten door aan te geven welke groepen en aantallen dieren u in welke fase gebruikt en tot welk totaal aantal te verwachten dieren dit leidt?

Correcte informatie over de te gebruiken aantallen dieren is belangrijk omdat getoetst wordt of de baten opwegen tegen de hoeveelheid ongerief die in totaal te

verwachten valt. Zo een toets moet wel op basis van correcte informatie gedaan worden.

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

**Datum**

17 juni 2015

**Onze referentie**

Aanvraagnummer  
AVD108002015135

**Opsturen binnen veertien dagen**

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

**Wanneer een beslissing**

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

**Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post



## Melding

### Bijlagen via de post

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

### 1 Uw gegevens

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

### 2 Bijlagen

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

### 3 Ondertekening

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

Centrale Commissie Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK s-GRAVENHAGE

bezoekadres

postadres

uw kenmerk  
ons kenmerk

datum 24 juni 2015  
onderwerp Antwoorden AVD108002015135

Mijne Dames en Heren,

Bijgaand zend ik u de antwoorden van de onderzoeker op uw brief d.d. 17 juni 2015.

Met vriendelijke groet



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht



Nederland

**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)

[info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD108002015135

**Uw referentie**

**Bijlagen**  
geen

Datum 17-juni-2015

Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte mevrouw [REDACTED],

Op 05-juni-2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project met als titel 'Een in vitro endometrium model voor toxicologisch onderzoek, met aanvraagnummer AVD108002015135. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

**Welke informatie nog nodig**

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

U geeft aan tot 225 dieren nodig te hebben voor het onderzoek. Onderliggend heeft u aangegeven hoeveel groepen en aantallen per testgroep u nodig heeft. U geeft bij 3.4.1 in de projectaanvraag aan dat u in de eerste stap twee maal 6 dieren gebruikt en in de andere stappen ongeveer 15. Bij de experimentele aanpak in de Bijlage Dierproef begint u met de mededeling dat er uit 6 dieren een bepaald aantal cellen te halen valt. Verder gaat u uit van een hoeveelheid van 15 secties en 15 dieren per sectie. Daarmee is voor ons onduidelijk of de twee groepen met zes dieren in stap 1 nu wel of niet meegerekend zijn. Als dat niet zo is dan is het te verwachten aantal dieren hoger dan 225 en als dat wel zo is, dan is het onduidelijk of en waarom er dan van 6 (projectaanvraag) of 15 dieren (beschrijving dierproef) wordt uitgegaan en of en waarom dit gevolgen heeft voor het totaal aantal dieren.

Kunt u deze onduidelijkheid toelichten door aan te geven welke groepen en aantallen dieren u in welke fase gebruikt en tot welk totaal aantal te verwachten dieren dit leidt?

Correcte informatie over de te gebruiken aantallen dieren is belangrijk omdat getoetst wordt of de baten opwegen tegen de hoeveelheid ongerief die in totaal te



verwachten valt. Zo een toets moet wel op basis van correcte informatie gedaan worden.

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

**Datum**

17 juni 2015

**Onze referentie**

Aanvraagnummer  
AVD108002015135

**Opsturen binnen veertien dagen**

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

**Wanneer een beslissing**

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

**Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post

## **Aanvullende informatie bij aanvraag AVD108002015135**

*U geeft aan tot 225 dieren nodig te hebben voor het onderzoek. Onderliggend heeft u aangegeven hoeveel groepen en aantallen per testgroep u nodig heeft. U geeft bij 3.4.1 in de projectaanvraag aan dat u in de eerste stap twee maal 6 dieren gebruikt en in de andere stappen ongeveer 15. Bij de experimentele aanpak in de Bijlage Dierproef begint u met de mededeling dat er uit 6 dieren een bepaald aantal cellen te halen valt. Verder gaat u uit van een hoeveelheid van 15 secties en 15 dieren per sectie. Daarmee is voor ons onduidelijk of de twee groepen met zes dieren in stap 1 nu wel of niet meegerekend zijn. Als dat niet zo is dan is het te verwachten aantal dieren hoger dan 225 en als dat wel zo is, dan is het onduidelijk of en waarom er dan van 6 (projectaanvraag) of 15 dieren (beschrijving dierproef) wordt uitgegaan en of en waarom dit gevolgen heeft voor het totaal aantal dieren.*

### **Antwoord:**

Het aantal van 225 dieren is het maximale aantal dieren dat binnen dit project mogelijk gebruikt gaat worden. Zoals ik heb aangegeven in de Beschrijving Dierproef, is de schatting van het aantal dieren gebaseerd op het aantal cellen wat in pilot studies geïsoleerd kon worden.

De eerste pilot, waarbij we de noodzaak van ovariectomie willen onderzoeken alsmede het celisolatie protocol willen optimaliseren, zal bestaan uit 6 dieren mét ovariectomie, 6 dieren zonder ovariectomie en 3 dieren voor optimalisatie van celprotocol. Deze laatste 3 dieren zijn nodig voor optimalisatie van het celisolatie protocol, zodat we er zeker van zijn dat we voldoende cellen kunnen isoleren voor voldoende controle experimenten. Deze dieren zullen geen ovariectomie ondergaan. Deze had ik inderdaad niet expliciet genoemd, waarvoor excuus.

Het totaal aantal dieren wat binnen dit project gebruikt zal worden hangt af van twee factoren. Ten eerste de celopbrengst per dier; ik hoop na de eerste pilot met minder dieren per sectie toe te kunnen door de opbrengst van aantal cellen per dier te optimaliseren. Ik ben in de berekening echter uitgegaan van maximaal 15 dieren per sectie. Ten tweede hangt het aantal dieren af van de uitkomsten van de studies; indien het humane endometrium model afdoende werkt zullen er minder stoffen getest worden in het rattenmodel. Dat betekent voor het totaal aantal dieren dat voor de pilot er  $6+6+3=15$  dieren gebruikt zullen worden, voor eerste serie stoffen testen 5-7 secties met (maximaal) 15 dieren = 105 dieren. Bij positieve resultaten, i.e. goede voorspelbaarheid van het ratten model, zullen meer stoffen getest worden in maximaal 5-7 additionele secties met maximaal 15 dieren = 105 dieren. Dit betekent een totaal *maximum* aantal dieren van  $15+105+105=225$  dieren.

**Centrale Commissie Dierproeven**

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

Nederland

Universiteit Utrecht

**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)

[info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)

**Onze referentie**

Aanvraagnummer

AVD108002015135

**Uw referentie**

Datum 27-07-2015

Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

**Bijlagen**

1

Geachte heer/mevrouw,

Op 05-06-2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project met als titel 'Een in vitro endometrium model voor toxicologisch onderzoek' met aanvraagnummer AVD108002015135. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

**Beslissing**

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet). U kunt met uw project 'Een in vitro endometrium model voor toxicologisch onderzoek' starten. De vergunning wordt afgegeven vanaf dagtekening van deze brief tot en met 01-07-2020.

**Procedure**

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC Utrecht gevoegd d.d. 01-06-2015. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a lid 3 van de wet. Wij nemen dit advies van de commissie over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving liggen ten grondslag aan dit besluit.

### **Bezwaar**

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze gegevens in het colofon.

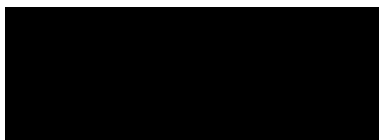
Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

### **Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

De Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze:



mr. drs. H.M. van der Gaag-Halbertsma  
plv Algemeen Secretaris

Dit besluit is genomen met inachtneming van het Besluit mandaat, volmacht en machtiging van de Centrale Commissie Dierproeven CCD 2014 zoals de Centrale Commissie Dierproeven heeft vastgesteld op 19 december 2014, ref 2014-04 en is gepubliceerd in de Staatscourant van 2 januari 2015, Nr. 163

### **Bijlagen**

#### **- Vergunning**

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



## Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan  
Naam: Universiteit Utrecht  
Adres: [REDACTED]  
Postcode en woonplaats: [REDACTED] Utrecht  
Deelnemersnummer: 10800

deze projectvergunning voor het tijdvak vanaf dagtekening van deze brief tot en met 01-07-2020, voor het project 'Een in vitro endometrium model voor toxicologisch onderzoek' met aanvraagnummer AVD108002015135, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC Utrecht.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Universitair Docent.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 05-06-2015
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 05-06-2015;
  - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale indiening op 05-06-2015;
  - c. Advies van Dierexperimentencommissie, ontvangen op 05-06-2015
  - d. De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 24-06-2015.

### Dierproeven

| Naam dierproef                                             | Diersoort | Aantal dieren | Ernst | Voorwaarden |
|------------------------------------------------------------|-----------|---------------|-------|-------------|
| Proef 1: Ovariectomie en, na euthanasie, hysterectomie rat | rat       | 225           | licht | geen        |

## Weergave wet- en regelgeving

### Dit project en wijzigingen

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

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

### Verzorging

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

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

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

### Pijnbestrijding en verdoving

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

### Einde van een dierproef

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijven schade

**Datum**  
27-07-2015

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD108002015135

zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand.

Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

Uit artikel 13c volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13d is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.