

31 MAART 2015



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 of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in 10300 <input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen															
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table border="0"> <tr> <td>Naam instelling of organisatie</td> <td>Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen</td> </tr> <tr> <td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td> <td>[REDACTED]</td> </tr> <tr> <td>KvK-nummer</td> <td>4 1 0 5 5 6 2 9</td> </tr> </table>	Naam instelling of organisatie	Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen	Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]	KvK-nummer	4 1 0 5 5 6 2 9									
Naam instelling of organisatie	Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen																
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]																
KvK-nummer	4 1 0 5 5 6 2 9																
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	<table border="0"> <tr> <td>Straat en huisnummer</td> <td>Geert Groteplein-Noord</td> <td>9</td> </tr> <tr> <td>Postbus</td> <td colspan="2">9102</td> </tr> <tr> <td>Postcode en plaats</td> <td>6525EZ</td> <td>Nijmegen</td> </tr> <tr> <td>IBAN</td> <td colspan="2">NL90ABNA0231209983</td> </tr> <tr> <td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td> <td colspan="2">UMC St Radboud</td> </tr> </table>	Straat en huisnummer	Geert Groteplein-Noord	9	Postbus	9102		Postcode en plaats	6525EZ	Nijmegen	IBAN	NL90ABNA0231209983		Tenaamstelling van het rekeningnummer	UMC St Radboud	
Straat en huisnummer	Geert Groteplein-Noord	9															
Postbus	9102																
Postcode en plaats	6525EZ	Nijmegen															
IBAN	NL90ABNA0231209983																
Tenaamstelling van het rekeningnummer	UMC St Radboud																
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<table border="0"> <tr> <td>(Titel) Naam en voorletters</td> <td>[REDACTED]</td> <td><input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td colspan="2">Wetenschappelijk onderzoeker</td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td colspan="2">[REDACTED]</td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td>0 2 4</td> <td>[REDACTED]</td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td colspan="2">[REDACTED]@radboudumc.nl</td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.	Functie	Wetenschappelijk onderzoeker		Afdeling	[REDACTED]		Telefoonnummer	0 2 4	[REDACTED]	E-mailadres	[REDACTED]@radboudumc.nl	
(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.															
Functie	Wetenschappelijk onderzoeker																
Afdeling	[REDACTED]																
Telefoonnummer	0 2 4	[REDACTED]															
E-mailadres	[REDACTED]@radboudumc.nl																
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table border="0"> <tr> <td>(Titel) Naam en voorletters</td> <td></td> <td><input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td colspan="2"></td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td colspan="2"></td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td colspan="2"></td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td colspan="2"></td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters		<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.	Functie			Afdeling			Telefoonnummer			E-mailadres		
(Titel) Naam en voorletters		<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.															
Functie																	
Afdeling																	
Telefoonnummer																	
E-mailadres																	

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- (Titel) Naam en voorletters [redacted] Dhr. Mw.
- Functie Instantievoor Dierenwelzijn
- Afdeling IWKV [redacted]
- Telefoonnummer 0 2 4 [redacted]
- E-mailadres instantievoordierenwelzijn@radboudumc.nl
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- Ja > Stuur dan het ingevulde formulier Melding Machtiging mee met deze aanvraag
- Nee

2 Over uw aanvraag

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

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- Startdatum 24 .05 .2015
- Einddatum 01 .05 .2015
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Endothelial toxicity of adrenal precursors, hydrocortisone and fludrocortisone that are increased in patients with congenital adrenal hyperplasia.
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Endotheliale toxiciteit van bijnierprecursors, hydrocortison en fludrocortison die verhoogd zijn in patiënten met congenitale bijnierhyperplasie.
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC RU DEC
- Postadres Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen ([redacted])
- E-mailadres [redacted]

4 Betaalgegevens

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

5 Checklist bijlagen

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


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 Instantie voor dierenwelzijn

Plaats Nijmegen

Datum 27 - 03 - 2015

Handtekening 



**Form
Project proposal**

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

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	10300
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen
1.3	Provide the title of the project.	Endothelial toxicity of adrenal precursors, hydrocortisone and fludrocortisone that are increased in patients with congenital adrenal hyperplasia

2 Categories

2.1	Please tick each of the following boxes that applies to your project.	<input type="checkbox"/> Basic Research <input checked="" type="checkbox"/> Translational or applied research <input type="checkbox"/> Regulatory use of routine production <input type="checkbox"/> Research into environmental protection in the interest of human or animal health or welfare dier <input type="checkbox"/> Research aimed at preserving the species subjected to procedures <input type="checkbox"/> Higher education or training
-----	---	--

Forensic enquiries

Maintenance of colonies of genetically altered animals not used in other animal procedures

3 General description of the project

3.1 Background

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

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

Congenital adrenal hyperplasia (CAH), is a disease resulting from mutations in the genes of one of the enzymes involved in the production of aldosterone, cortisol and androgen from cholesterol in the adrenal cortex. The most affected enzyme is 21-hydroxylase. This causes a blockade in the formation of aldosterone and cortisol, with accumulation of precursors before the enzymatic block and overproduction of the not affected androgens. This causes a clinical picture characterized by symptoms of cortisol and mineralocorticoid deficiency resulting in vomiting and salt-wasting, leading to dehydration and death and in prenatal virilisation of the external genitalia in girls. Apart from excess of androgens, precursors of cortisol and aldosterone may accumulate, including 17-hydroxyprogesterone (17OHP), progesterone (P), 21-deoxycortisol (21DF) and androstenedione ($\Delta 4$). CAH is treated with hydrocortisone and, in particular in case there is no residual function of 21-hydroxylase, a mineralocorticoid (fludrocortisone) to substitute for aldosterone deficiency. Goals of the glucocorticoid treatment is not only the substitution of the lack of cortisol but also to suppress the active pituitary adrenal axis with consequently suppression of precursors and androgens. Final goal of this treatment is the improvement of life expectancy and quality of life. CAH has been associated with an increased prevalence of cardiovascular risk factors, in particular adiposity, insulin resistance and slightly increase in blood pressure (Mooij, C.F. et al. Clin Endocrin 2010). Since the low prevalence of CAH does not allow us to investigate the association between atherosclerosis and CAH directly, our knowledge of the impact of these risk factors on atherosclerosis in the general population strongly suggests that patients with CAH are at risk for development of atherosclerotic events. Furthermore, in a scarce study on this topic, intima media thickness appeared to be increased in (adult) patients with CAH, indicating vascular damage as a consequence of CAH and/or its treatment (Sartorato, P. et al. J Clin Endocrinol Metab 2007). Both excessive treatment with hydrocortisone and mineralocorticoids (fludrocortisone) as well as accumulation of previously mentioned steroid precursors may mediate these associations. These factors could act indirectly by mediating the development of a phenotype with increased cardiovascular risk (often referred to as the 'metabolic syndrome'). Alternatively or in concert, these steroids may also directly initiate or facilitate the atherosclerotic process. Two cell types act as the main directors of this process: the endothelial cells and inflammatory cells. In addition (and to complicate matters), these cells may also be involved in the pathogenesis of the metabolic syndrome. In this research project, we will assess the direct toxic effects of the above mentioned steroids on the capacity of the endothelium in rat small mesenteric resistance vessels (using the Mulvany myograph) to induce vasodilation in response to exposure to acetylcholine. This ex-vivo bio-assay sensitively detects alteration in endothelial function that is associated with the development of atherosclerosis (Davignon, J. et al Circulation 2004).

3.2 Purpose

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

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

In this project, we want to answer the following question: what is the effect of adrenal steroid precursors relevant in the pathogenesis of Congenital Adrenal Hyperplasia (17-hydroxyprogesterone (17OHP), progesterone (P), 21-deoxycortisol (21DF) and androstenedione ($\Delta 4$)) and steroids relevant to the treatment (hydrocortisone and fludrocortisone) on microvascular function, in particular endothelium-dependent vasodilatation?

3.3 Relevance

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

Patients with Congenital Adrenal Hyperplasia often develop the metabolic syndrome (hypertension, diabetes, overweight) which exposes them to an increased risk of cardiovascular disease, atherosclerosis in particular. For physicians and patients, it is currently uncertain to what extent the disease itself (by accumulation of steroid precursors) or its therapy (including hydrocortisone and fludrocortisone) contribute to these cardiometabolic consequences. In addition, it is not known whether these steroid precursors and therapeutics have a direct toxic effect on microvessels that could contribute to the atherosclerotic process.

This project will increase our knowledge on the direct vascular effects of steroids involved in the pathogenesis and therapy of Congenital Adrenal Hyperplasia and could therefore provide some guidance for clinicians to the direction of subsequent clinical research on how to prevent cardiovascular disease in patients with this disorder.

As justified in the section 'animal procedures', there is no alternative to study the direct actions of steroids on endothelial function than in isolated vessels of healthy adult animals.

3.4 Research Strategy

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

Substudy a

Healthy adult rats will be anaesthetised with pentobarbital. The animals will be euthanised with an overdose of the hypnotic pentobarbital. Immediately after healthy adult rats have been sacrificed, mesenteric resistance arterioles (diameter < 400 micrometer; 3-4/rat) will be isolated and suspended in a Mulvany myograph to assess the vasodilator response to acetylcholine and nitroprusside in absence and presence of hydrocortisone, fludrocortisone and steroid precursors involved in the pathogenesis of CAH. Twenty to sixty rats will be used for this study part (twenty when a single dose for each steroid is tested; depending on the results 1-3 doses will be investigated per steroid).

Substudy b

For those steroids or precursors that appeared to affect endothelium-dependent vasodilation in substudy 1 (with a maximum of 2 steroids), we will explore the role of various endothelium-derived relaxing factors in the steroid-induced endothelial toxicity: Nitric Oxide, prostanoids, and hyperpolarizing factors. Twenty rats are reserved for this part of the protocol.

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

The rats are euthanized under anesthesia with pentobarbital. Subsequently, mesenteric resistance vessels (diameter 150-400 μm) will be suspended in a Mulvany myograph and vasodilator response to vasodilators in absence and presence of steroids will be assessed according to standard procedures (substudy a). When this study reveals significant impact of steroids on vasodilator responses of mesenteric resistance vessels, in a subsequent study (substudy b) the role of endothelial relaxing factors will be assessed using pharmacological tools.

This project is feasible since the research team has a longlasting experience with the use of this experimental set-up (i.e. Riksen et al J Cardiovasc Pharmacol 2003; Smits et al J Cardiovasc Pharmacol 2002) and our poweranalysis shows that the number of animals needed to draw reliable conclusions is also feasible.

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

Substudy b (additional pharmacological experiments in isolated mesenteric resistance vessels to further explore the mechanism of endothelial vasodilator dysfunction) will only be performed if results of substudy a indicate an effect of the steroid precursors, hydrocortisone and/or fludrocortisone. This approach limits the number of rats needed in this project as much as possible. In addition, substudy b will serve as an internal verification of the observed impact of the steroid(precursors) on endothelial vasodilator function in substudy a.

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

Serial number	Type of animal procedure
1	Ex-vivo vasodilation model

Appendix
Description animal procedures

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

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	10300					
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen					
1.3	List the different types of animal procedures. Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="440 1144 956 1173">Serial number</th> <th data-bbox="959 1144 1487 1173">Type of animal procedure</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="440 1173 956 1288">1</td> <td data-bbox="959 1173 1487 1288">Ex-vivo vasodilation model</td> </tr> </tbody> </table>	Serial number	Type of animal procedure	1	Ex-vivo vasodilation model	
Serial number	Type of animal procedure						
1	Ex-vivo vasodilation model						

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

For each animal, the experimental procedure starts with euthanasia with an overdose of pentobarbital (i.v.). This will be performed at the Central animal facility (CDL), Radboudumc. The primary outcome parameter is the vasodilator response to acetylcholine in mesenteric resistance arteries. This parameter provides a validated measure of the function of the endothelium to modulate vascular tone. The endothelial factors that are released in response to acetylcholine (NO, prostanoids and hyperpolarizing factors) play also a role in atherogenesis by modulating function of inflammatory cells and platelets and by regulating cell growth in the vascular wall.

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

After anesthesia with pentobarbital, and the rat has been killed with an overdose of pentobarbital, the abdomen is opened, the omentum is taken out and mesenteric resistance arteries are isolated and dissected under a microscope. On average three (maximally 4) mesenteric resistance vessels are subsequently suspended in a Mulvany Myograph and vasodilator responses are assessed ex-vivo. These procedures are performed at the laboratory of the [REDACTED]

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

For each vessel, the vasodilator response will be quantified in terms of log EC50 and Emax as determined using generally accepted curve fitting software (Graphpad Prism). The impact of steroids on vasodilator responses will be analysed by comparing log EC50 and Emax using paired t-tests. Based on previous studies at our department (i.e. Riksen et al J Cardiovasc Pharmacol 2003), we have performed power calculations indicating that for each steroid 6 vessels originating from 6 different animals should be sufficient to detect a minimal difference in log EC50 and Emax of 0.5 and 28% respectively. This analysis indicates that our model is sensitive enough to detect relevant differences in vasodilator responses. Furthermore, based on an estimate number of 3-4 vessels harvested per rat (which is achievable according to our experience), this analysis indicates that we can minimize the number of animals needed for this study to 20-60 animals in substudy a (depending on the number of steroid doses that we will explore; we will use maximally 3 doses per investigated steroid) and 20 animals in substudy b.

B. The animals

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

Wistar rats will be used.

We want to assess the impact of steroids on endothelial vasodilator function in (small) mammals with normal physiology (no hypertension, diabetes or overweight) to prevent any bias of any other endothelium-modulating factors and to mimick the vascular condition of children with Congenital Adrenal Hyperplasia without any co-morbidity as much as possible. Less complex animals can not be used since results from these animals can not be translated to humans at all. Vessels from mice are too small to perform this type of experiments.

Species	Origin	Maximum number of animals	Life stage
Male Wistar-Hannover rats	Harlan	80	Adult

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

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

No

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

D. Replacement, reduction, refinement

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

replacement: mammals (in stead of less complex animals) are needed to allow translation to humans. Unfortunately, we can not use humans at this stage, since in humans the endothelial effect of steroids can not be studied in isolation from their systemic adverse actions on blood pressure, insulin sensitivity and body weight.

reduction: This experiment has been devided in two substudies to allow exploration of a wide array of steroid precursors and therapeutics for Congenital Adrenal Hyperplasia first before zooming in on the mechanism of endothelial dysfunction. In this way, after 20 animals (3 vessels/animal) we will be able to conclude whether this approach detects any impact of the studied steroids on endothelial function. If none of the steroids appear to affect endothelial function, substudy b will be skipped.

refinement: By exposing isolated vessels to our interventions (addition of steroids) we can study the vascular impact of these interventions separately from any systemic action (blood pressure, insulin sensitivity, body weight etcetera) that these steroids might have when administered systemically in-vivo. Furthermore it reduces the impact of our study on animal welfare as much as possible, since euthanasia (with pentobarbital) is the only procedure that will be performed in the living animal.

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

The only experimental procedure in the living animal will be euthanasia (under anesthesia), which limits the impact on animal welfare to a minimum.

Repetition and Duplication

E. Repetition

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

Accommodation and care

F. Accommodation and care

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

No

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

F. Accommodation and care

G. Location where the animals procedures are performed

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

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

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

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

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

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

Yes

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

No

Explain why these effects may emerge.

Not applicable

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

Not applicable

J. Humane endpoints

May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of humane endpoints to prevent further distress?

No > Continue with question K.

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

Indicate the likely incidence.

K. Classification of severity of procedures

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

Discomfort code 1 (non-recovery), category: mild.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No > Continue with Section 3: 'Signatures'.

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

The experiment starts with euthanasia by pentobarbital overdose to allow us to dissect mesenteric resistance vessels without any suffering by the animal.

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

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

Yes

Format**Niet-technische samenvatting**

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

1 Algemene gegevens

1.1	Titel van het project	Endotheliale toxiciteit van bijnierprecursors, hydrocortison en fludrocortison die verhoogd zijn in patienten met congenitale bijnier hyperplasie
1.2	Looptijd van het project	24-4-2015 - 1-5-2016
1.3	Trefwoorden (maximaal 5)	Congenitale bijnier hyperplasie

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 Projectbeschrijving

- 3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)
- Patiënten met een Congenitale bijnierhyperplasie hebben door een enzymdefect in de bijnier een gestoorde vorming van de bijnierhormonen cortisol en aldosteron. Deze hormonen spelen een belangrijke rol in de regulatie van water- en zout huishouding en de reactie op stress. Naast ophoping van voorlopers van deze hormonen zal door ontbreken van de normale terugkoppeling door cortisol naar de hypofyse veel ACTH worden gemaakt waardoor de bijnier sterk door ACTH wordt gestimuleerd en er veel androgenen worden gevormd. De behandeling van dit ziektebeeld bestaat primair uit toediening van cortisol (in de vorm van hydrocortison) waarbij vaak ook een vervanger van aldosteron dient te worden gegeven (fludrocortison). Uit klinisch onderzoek blijkt dat patiënten met dit ziektebeeld die met hydrocortison/fludrocortison worden behandeld een hoger lichaamsgewicht, hogere bloeddruk en vaker suikerziekte hebben in vergelijking met gezonden van de zelfde leeftijd. We denken daarom dat deze patiënten meer risico hebben op hart- en vaatziekte. Met dit onderzoek willen we de vasculaire gevolgen van deze hormonale stoornis beter in kaart brengen waardoor we uiteindelijk de therapie zodanig kunnen verbeteren dat de gevolgen voor de bloedvaten zo veel mogelijk beperkt blijven. Het endotheel speelt een belangrijke rol in de initiatie van atherosclerose. Stikstofoxide dat door het endotheel wordt afgegeven heeft daarbij een belangrijke beschermende functie. De mate waarin het endotheel in staat is stikstofoxide te maken kunnen we in het laboratorium meten door het endotheel bloot te stellen aan acetylcholine (een stof die via receptoren op het endotheel de stikstof-oxide productie activeert, waardoor vaatverwijding ontstaat. De vraag die we in dit onderzoek willen beantwoorden is of de voorlopers van cortisol en aldosteron danwel de therapie die wordt toegepast (hydrocortison, fludrocortison) een direkt verstorend effect hebben op het endotheel waardoor minder stikstofoxide wordt vrijgemaakt en daardoor minder vaatverwijding optreedt.
- 3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?
- Uiteindelijk hopen we met de kennis die door dit onderzoek wordt verkregen de behandeling van (nu nog relatief jonge) patiënten met Congenitale Bijnierhyperplasie zodanig te verbeteren dat ze op latere leeftijd minder last krijgen van de invaliderende gevolgen van atherosclerosis zoals hartinfarct, herseninfarct en verstoorde circulatie van de benen.

3.3	Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	<p>Substudie a: minimaal 20, maximaal 60 Wistar ratten Volgens onze poweranalyse zouden 20 ratten (rekening houdend met uitval van 10%) voldoende moeten zijn om een relevant effect van 1 dosis van de diverse genoemde steroïden op acetylcholine-geïnduceerde vaatverwijding te kunnen detecteren. Omdat we bij onvoldoende resultaat de mogelijkheid willen openhouden nog twee additionele doseringen van ieder steroïd te onderzoeken zijn voor studie a maximaal 60 ratten noodzakelijk.</p> <p>Substudie b: 20 ratten Omdat de dosering van de (maximaal 2) te bestuderen steroïden uit studie a bekend is zijn voor dit onderdeel 20 ratten noodzakelijk.</p>
3.4	Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?	Het onderzoek begint met het doden van de ratten door middel van een overdosis pentobarbital. Bij leven is er een ongerief code 1, non-recovery (categorie: mild).
3.5	Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	Ongerief code 1 (non-recovery)
3.6	Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	De dieren worden gedood in de proef en via CDL afgevoerd.

4 Drie V's

4.1	<p>Vervanging Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.</p>	<p>Bij de mens kan het geïsoleerd effect van 1 steroïd(precursor) op endotheelfunctie niet onderzocht worden zonder confounding door effect op bloeddruk, lichaamsgewicht of andere hormonen. Ratten zijn nodig omdat de vaatjes van ratten lijken op die van de mens. Muizen vaatjes zijn te klein om deze experimenten in uit te voeren.</p>
-----	--	--

- 4.2 **Vermindering** Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.
- Door meerdere vaten per rat te gebruiken is het mogelijk om met een beperkt aantal ratten toch een groot aantal steroid(precursors) te screenen op hun effect op het endotheel. 6 vaten per groep is het absoluut minimum om representatieve resultaten te verkrijgen. Door de onderzoeksvraag op te splitsen in twee substudies, zal bij ontbreken van een effect van de gekozen steroiden op endotheelfunctie het aantal dieren dat voor dit experiment wordt opgeofferd tot een minimum van 20 worden beperkt. Indien substudie a in eerste instantie een negatief resultaat heeft (dwz we detecteren geen effect van een steroid op endotheelfunctie) dan willen we graag het onderzoek herhalen bij hogere doseringen van de diverse steroiden. Een maximum van in totaal 60 ratten zal voor substudie a worden ingezet. Omdat we door de resultaten van substudie a weten welke dosis van de steroiden we moeten gebruiken, hebben we voor substudie b slechts 20 ratten nodig.
- 4.3 **Verfijning** Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diersmodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.
- Het gebruik van minder complexe diersoorten maakt translatie naar de mens onmogelijk. De mesenteriaalvaatjes van muizen zijn te klein voor toepassing in de Mulvany myograaf. Daarom is gekozen voor de rat. Het onderzoek kan helaas niet in de mens worden uitgevoerd omdat dan het direct effect van de steroiden op de vaatwand niet kan worden bestudeerd doordat systemische effecten van de steroiden (bloeddrukstijging, glucose stijging, toename lichaamsgewicht en beginnende atherosclerose) de resultaten van de metingen zal vertekenen. De vaatjes worden verwijderd uit gezonde ratten. Het onderzoek gebeurt in geïsoleerde vaatjes in een orgaanbad. In deze geïsoleerde gezonde vaatjes bestuderen we het effect van steroiden die verhoogd aanwezig zijn bij patiënten met congenitale bijnierhyperplasie. Door deze onderzoeksopzet kunnen we heel precies conclusies trekken over de acute effecten van deze steroiden op het endotheel van deze vaatjes. De effecten die we op dit endotheel meten hebben een belangrijke rol in het ontstaan van atherosclerose. Daardoor kunnen we met deze onderzoeksopzet precies nagaan of deze steroiden na korte blootstelling reeds veranderingen in het endotheel veroorzaken die atherosclerose bevorderen. Dit is precies de vraag die we met dit onderzoek proberen te beantwoorden. Deze vraag zouden we niet zo precies kunnen beantwoorden wanneer we de ratten in leven zouden blootstellen aan deze steroiden omdat dan ook andere effecten van deze steroiden (zoals toename in lichaamsgewicht, bloeddrukstijging en stijging van glucose) zouden bijdragen aan de effecten op de vaatwand.
- 4.4 Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.
- Doden zal geschieden onder minimaal invasieve anaesthesie.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum | _____

Beoordeling achteraf | _____

DEC-advies

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: 2015-0005
2. Titel van het project: Endothelial toxicity of adrenal precursors, hydrocortisone and fludrocortisones that are increased in patients with congenital adrenal hyperplasia.
3. Titel van de NTS: Endotheliale toxiciteit van bijnierprecursors, hydrocortison en fludrocortison die verhoogd zijn in patiënten met congenitale bijnier hyperplasie.
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: RUDEC
 - telefoonnummer contactpersoon: 024-██████████
 - mailadres contactpersoon: ██████████@radboudumc.nl
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC: 27-01-2015
 - aanvraag compleet
 - in vergadering besproken: 03-02-2015
 - anderszins behandeld
 - termijnonderbreking(en) van 17-02-2015 tot 18-03-2015
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag: 18-03-2015
 - advies aan CCD: 24-03-2015
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 17-02-2015
 - Strekking van de vraag / vragen: De onderzoekers worden verzocht te onderbouwen waarom zij dit project translationeel onderzoek bestempelen, terwijl het klinische probleem niet is aangetoond. Zij worden gevraagd referenties toe te voegen in de beschrijving van de wetenschappelijke achtergrond, en ook de haalbaarheid van het project beter toe te lichten. De onderzoekers wordt geadviseerd de ex-vivo experimenten in minder detail te beschrijven, om onnodige amendementen bij kleine wijzigingen te voorkomen. De onderzoekers willen functionele testen met leukocyten uitvoeren. Echter, het voorgestelde anestheticum heeft een remmende werking op leukocyten. De onderzoekers worden verzocht een ander anestheticum te gebruiken

dat dit effect niet heeft. Andere vragen betreffen kleine, soms slechts tekstuele, wijzigingen in de vergunningaanvraag.

- Datum antwoord: 17-03-2015 en 19-03-2015
 - Strekking van het antwoord: De gevraagde referenties van de wetenschappelijke achtergrond en haalbaarheid van de doelstelling zijn toegevoegd aan de aanvraag. De aanvrager licht toe waarom het klinisch probleem niet is aangetoond, maar wel degelijk bestaat, waarna de DEC akkoord gaat met de categorie translationeel onderzoek. De functionele testen met leukocyten worden achterwege gelaten.
 - De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag. Het DEC-advies is van toepassing op de aangepaste aanvraag.
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.
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag
3. De DEC is competent om hierover te adviseren. Zij acht zich voldoende onafhankelijk en onpartijdig, en beschikt over voldoende expertise om een advies uit te brengen over dit projectvoorstel.

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:
 - uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord.
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie is in overeenstemming met de hoofddoelstelling.
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling, namelijk 'what is the effect of adrenal steroidprecursors relevant in the pathogenesis of Congenital Adrenal Hyperplasia (17-hydroxyprogesterone (17OHP), progesterone (P), 21-deoxycortisol (21DF) and androstenedione ($\Delta 4$)) and steroids relevant to the treatment (hydrocortisone and fludrocortisone) on microvascular function, in particular endothelium-dependent vasodilatation?'. Het wordt ingeschat als een substantieel belang. Indien complicaties voor deze patiëntengroep verminderd kunnen worden, levert dat belangrijke gezondheidswinst op. Voorts kunnen de resultaten van dit onderzoek de aanleiding vormen voor verder fundamenteel onderzoek naar endotheelfunctie. De mogelijke bijdrage aan fundamenteel onderzoek naar vaatschade in meerdere ziektebeelden, vertegenwoordigt eveneens een reëel belang.
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Deze onderzoeksgroep heeft veel ervaring met het beschreven onderzoeksmodel. De gekozen aanpak leidt in elk geval tot meer

- inzicht in het acute effect van steroïden op endotheel-afhankelijke vasodilatatie.
5. Bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren zijn niet van toepassing.
 6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Het ongerief bij de dieren wordt uitsluitend bepaald door het doden middels een overdosis anestheticum. De DEC schat het ongerief voor de dieren daarom in als mild.
 7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**. De doelstelling van het project kan niet gerealiseerd worden zonder proefdieren of door gebruik van minder complexe diersoorten.
 8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. De resultaten uit substudie a worden gebruikt in substudie b, waardoor hier minder dieren nodig zijn. De DEC is van oordeel dat het project kan worden uitgevoerd met maximaal 80 mannelijke Wistar ratten.
 9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven. De dieren worden in het kader van dit ex-vivo onderzoek op een zo humaan mogelijke wijze gedood. De experimenten worden uitgevoerd op het daarna geïsoleerde weefsel. Verdere verfijning is niet mogelijk.
Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.
 10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project, zelfstandig leesbaar, beknopt en begrijpelijk geformuleerd.

1 D. Ethische afweging

Op basis van de onder C genoemde overwegingen komt de DEC tot de volgende ethische afweging. Bij de dierproeven wordt adequaat invulling gegeven aan de vereisten op het gebied van de vervanging, vermindering en/of verfijning van dierproeven. Voor alle dieren blijft het ongerief beperkt tot mild, omdat zij zonder voorafgaande handelingen op een zo humaan mogelijke wijze worden gedood.

Tegenover de nadelige gevolgen voor de dieren staat dat met dit onderzoek belangrijke wetenschappelijke inzichten kunnen worden verworven betreffende het acute effect van steroïden op vasodilatatie. Het is aannemelijk dat die inzichten kunnen bijdragen aan het verminderen van vaatschade bij CAH-patiënten, en mogelijk bruikbaar zijn bij fundamenteel onderzoek naar endotheelfunctie. De DEC acht het belang van **de** doelstelling substantieel, de concrete doelstellingen zijn haalbaar en kunnen niet zonder dieren worden behaald. Naar het oordeel van de commissie rechtvaardigt het belang van de doelstelling het op humane wijze doden van de dieren ten behoeve van het verkrijgen van weefsel waarmee dit onderzoek kan worden uitgevoerd.

2 E. Advies

1. Advies aan de CCD
 - De DEC adviseert de vergunning te verlenen.
2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

Van: ██████████@radboudumc.nl
Verzonden: woensdag 8 april 2015 16:55
Aan: ZBO-CCD; ██████████@radboudumc.nl; ██████████@radboudumc.nl
Onderwerp: RE: Aanvullende informatie aanvraag AVD10300201569

Categorieën: ██████████ Dossierhouder

Geachte ██████████

Dank u wel voor uw bericht. Er is inderdaad een foutje in de einddatum van het aanvraagformulier geslopen. Deze is aangepast. De naam ██████████ is uit de NTS verwijderd en de NTS is ook herschreven door de onderzoekers. Met betrekking tot de pentobarbital geven de onderzoekers onderstaande toelichting:

Op de vraag naar mogelijke impact van pentobarbital het volgende:

Pentobarbital kan de acetylcholine-geïnduceerde vaatverwijding in mesenteriaalvaten van de rat enigszins verminderen (Anaesth Analg 1994;78:823-830), maar pas in een concentratie van $\sim 3 \times 10^{-4}$ M. Wij doseren pentobarbital in een dosis van 4-6 mg/100g, het verdelingsvolume van pentobarbital in acht nemend (J Pharm Sci 1984;73(8):1117-21), verwachten we onder die concentratie pentobarbital te blijven. In het verleden (A. Thijs, manuscript submitted) zijn er bovendien vergelijkbare experimenten gedaan waarbij ook 6mg/100g rat pentobarbital werd toegediend om de rat te termineren. Ook uit deze eerdere studies hebben we goede vasculaire responsen verkregen (zowel op nitroprusside als acetylcholine). Een eventueel residueel effect van deze lage dosis pentobarbital op de acetylcholine-geïnduceerde vaatverwijding ex vivo wordt ten slotte verdisconteerd door het gebruik van interne controles: metingen van acetylcholine-geïnduceerde vaatverwijding in afwezigheid van steroïden (alleen blootstelling aan pentobarbital). Ten laatste zal gebruik van bijvoorbeeld isofluraan de acetylcholine-geïnduceerde vaatverwijding waarschijnlijk meer beïnvloeden dan pentobarbital. Van andere anaesthetica weten we niet wat het effect zou kunnen zijn. Dit overwegend is onze voorkeur daarom naar pentobarbital gegaan.

Ik heb de gewijzigde documenten opnieuw ingediend via de server.

Met vriendelijke groet,

Van: ZBO-CCD [<mailto:ZBO-CCD@minez.nl>]
Verzonden: woensdag 8 april 2015 11:14
Aan: ██████████
CC: ██████████
Onderwerp: Aanvullende informatie aanvraag AVD10300201569

Geachte ██████████,

Op 27 maart hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning ontvangen. Het gaat om uw project: "Endothelial toxicity of adrenal precursors, hydrocortisone and fludrocortisone that are increased in patients with congenital adrenal hyperplasia".

Om uw aanvraag verder in behandeling te nemen hebben wij nog aanvullende informatie van u nodig:

- U beschrijft in uw projectaanvraag dat u gebruik maakt van pentobarbital als anesthesie en euthanasie middel. Kunt u nader toelichten of dit middel effect kan hebben op het weefsel dat u in dit project gaat bestuderen?
- De einddatum op het aanvraagformulier ligt in het verleden en is niet in overeenstemming met de datums op uw NTS. Wilt u een herzien aanvraag formulier insturen met de correcte looptijd van uw project?

- De niet technische samenvatting voldoet niet aan de eisen zoals gesteld in de Dierproeven regeling 2014, voor het invullen van de NTS kunt u gebruik maken van de handleiding aanvraag projectvergunning. Deze kunt u vinden op de website van de CCD: www.zbo-ccd.nl/handleiding-aanvraag-projectvergunning-dierproeven
- In punt 3.6 van de NTS gebruikt u de naam █████, dit doet mogelijk afbreuk aan de anonimiteit van uw aanvraag en u kunt overwegen deze term te verwijderen uit de tekst.

Wij ontvangen graag voor vrijdag 10 april 2015 uw antwoord op onze vraag, en ook de aangepaste NTS en einddatum van uw project om uw aanvraag in de eerstvolgende vergadering van de CCD te kunnen bespreken.

Met vriendelijke groet,

██████████

Secretariaat Centrale Commissie Dierproeven

Centrale Commissie Dierproeven www.zbo-ccd.nl

.....
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag
.....

T: 0900 2800028

E: ZBO-CCD@minez.nl

Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is gezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen.

De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message.

The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.

Het Radboudumc staat geregistreerd bij de Kamer van Koophandel in het handelsregister onder nummer 41055629. The Radboud university medical center is listed in the Commercial Register of the Chamber of Commerce under file number 41055629.



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen
t.a.v. [redacted]
Geert Grooteplein-Noord 9
6525EZ Nijmegen
Nederland

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.zbo-ccd.nl

T 0900-2800028 (10 ct /min)
Info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD10300201569**

Datum 22 april 2015
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning dierproeven

Bijlagen
1

Geachte [redacted]

Op 31 maart 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project 'Endothelial toxicity of adrenal precursors, hydrocortisone and fludrocortisone that are increased in patients with congenital adrenal hyperplasia' met aanvraagnummer AVD10300201569. 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 'Endothelial toxicity of adrenal precursors, hydrocortisone and fludrocortisone that are increased in patients with congenital adrenal hyperplasia' starten. De vergunning wordt afgegeven van 24 mei 2015 tot en met 1 mei 2016.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de dierexperimentencommissie RUDEC gevoegd. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet. Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de dierexperimentencommissie. 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 zijn de grondslag van dit besluit.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen. Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

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

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

Datum
22 april 2015
Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD10300201569

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:



ir. G. de Peuter
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 deeluitmakend: - DEC-advies

Datum
22 april 2015
Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD10300201569

Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan
Naam: Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen
Adres: ~~Geert Groteplein Noord 9~~
Postcode en woonplaats: 6525EZ Nijmegen
Deelnemersnummer: 10300

deze projectvergunning voor het tijdvak 24 mei 2015 tot en met 1 mei 2016, voor het project 'Endothelial toxicity of adrenal precursors, hydrocortisone and fludrocortisone that are increased in patients with congenital adrenal hyperplasia' met aanvraagnummer AVD10300201569, volgens advies van RU DEC.

De functie van de verantwoordelijke onderzoeker is projectleider.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen bij digitale indiening op 27 maart 2015 en aangepast op 8 april 2015;
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 27 maart 2015;
 - b. Niet-Technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale indiening op 27 maart 2015 en aangepast op 8 april 2015;
 - c. Advies van dierexperimentencommissie d.d. 24 maart 2015 ontvangen op 27 maart 2015.

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst
Ex-vivo vasodilation model	Ratten (Wistar-Hannover) niet genetisch gemodificeerd; mannen	1-3 groepen met 20 dieren 1x 20 dieren voor vervolgd studie indien substudie a een positief uitkomst geeft Totaal: 80 dieren	Licht

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

Datum
22 april 2015
Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD10300201569

matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijven schade zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand.

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

Uit artikel 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.