

ARD 105002016485



22 MAART 2016

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	10500
		<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	Rijksuniversiteit Groningen
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	1 1 7 9 0 3 7
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	A/ Deusinglaan 1, [REDACTED]
		Postbus	[REDACTED]
		Postcode en plaats	9713AV GRONINGEN
		IBAN	NL80ABNA0446049352
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Rijksuniversiteit Groningen
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
		Functie	[REDACTED]
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	[REDACTED]
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- | | |
|-----------------------------|--|
| (Titel) Naam en voorletters | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie | |
| Afdeling | |
| Telefoonnummer | |
| E-mailadres | |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- Ja > Stuur dan het Ingevulde formulier Melding Machtiging mee met deze aanvraag
- Nee

2 Over uw aanvraag

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

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- | | |
|------------|---------------------|
| Startdatum | 0 1 _ 0 4 _ 2 0 1 6 |
| Einddatum | 0 1 _ 0 4 _ 2 0 2 1 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Programming of Metabolic Syndrome by Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Programmering van Metabool Syndroom door zwangerschapscholestase
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|------------------------------|
| Naam DEC | DEC-RuG |
| Postadres | A. Deusinglaan 1, [REDACTED] |
| E-mailadres | secrdec.umcg@umcg.nl |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 935,00 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
- Beschrijving dierproeven (1)

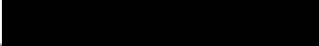
6 Ondertekening

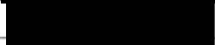
- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:

Centrale Commissie
 Dierproeven
 Postbus 20401
 2500 EK Den Haag

Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.6). De ondergetekende verklaart:

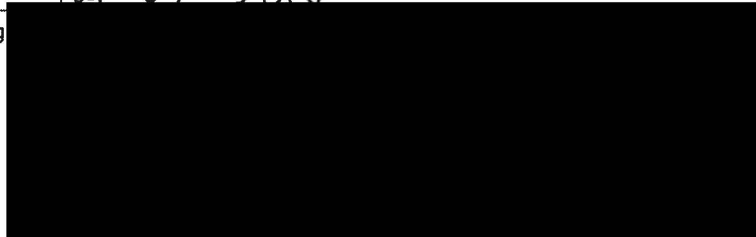
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan 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 GRONINGEN

Datum 21-03-2016

Handtekening 



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.centralecommissiedierproeven.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.

The metabolic syndrome (MetS) is a disorder of energy utilization and storage, diagnosed by a co-occurrence of three out of five of the following medical conditions: abdominal obesity, elevated fasting plasma glucose (hyperglycemia), high serum triglycerides (hypertriglyceridemia), low high-density (HDL)-cholesterol/high low-density (LDL)-cholesterol levels, and elevated blood pressure. MetS increases the risk to develop cardiovascular disease, type 2 diabetes and stroke (Papakonstantinou, Lambadiari et al. 2013). The incidence of these so-called non-communicable diseases is rapidly increasing and they are a major cause of morbidity and mortality in modern societies.

Current therapeutic strategies have only a limited success and frequently do not result in complete reversal of either the MetS or its consequences. Preventive strategies are primarily required to reduce MetS prevalence and impact in humans. Although MetS usually takes years to decades to develop, the majority of presently born infants are exposed to influences in early life that increase their risk of developing MetS in adulthood. Fundamental insight into the origins of this so-called 'early-life programming' is of great importance to define preventive strategies for MetS development. Outcome from many epidemiological studies supports the concept of early-life programming, and links early life nutrition and metabolism to MetS risk in adulthood (Ravelli, Stein et al. 1976; Barker 1995; Barker 2000; Roseboom, van der Meulen et al. 2001; Calkins and Devaskar 2011; Ford and Long 2011).

[REDACTED]

It is generally believed that early-life programming is driven by epigenetic modifications (Gabory, Attig et al. 2011). Changes in metabolism induced by epigenetic modifications could hence induce MetS development in the offspring. However, as it is largely unresolved how genetic/environmental factors impose epigenetic modifications, the molecular and physiological mechanisms underlying early-life programming remain largely unresolved. We believe that fundamental insights will boost development of novel preventive and therapeutic strategies to interfere with early life programming, hence reducing human MetS development in the future.

[REDACTED] we have concentrated our research efforts to *delineate the environmental and genetic factors that determine MetS risk in later life, to elucidate the mechanisms underlying early-life programming, and to establish the window of sensitivity of established programming factors to define effective therapies to reduce MetS incidence*

[REDACTED]

[REDACTED] the current research project aims to understand the causes and consequences of metabolic programming by perturbed bile acid metabolism in early-life. This is of particular relevance for women that develop

intrahepatic cholestasis of pregnancy (ICP), because their offspring is programmed for MetS development in later life (Papacleovoulou, Abu-Hayyeh et al. 2013).

Although the etiology of ICP remains largely unresolved, it is considered as a multifactorial disorder with environmental, hormonal, and genetic contributions. During normal pregnancy there is a physiological rise in circulating bile acids that results from a reduction in hepatic bile excretion, causing a backflow of bile acids into the hepatocyte and bloodstream. This phenomenon is mechanistically explained by a lower expression of the major hepatic Bile Salt Export Pump (BSEP). Molecular studies have shown that pregnancy hormones (estradiol and progesterone) suppress BSEP mRNA expression by interfering with its transcriptional activator Farnesoid X Receptor (FXR) (Milona, Owen et al. 2010; Abu-Hayyeh, Papacleovoulou et al. 2013; Song, Vasilenko et al. 2014). When considering the aforementioned mechanisms, it is not surprising that human ICP is associated with supraphysiological increases in pregnancy hormone levels during pregnancy, as well as mutations in BSEP, FXR and the bile acid transporter Multi Drug Resistance Protein 3 (MDR3; mouse homolog is MDR2) (Dixon, Weerasekera et al. 2000; Keitel, Vogt et al. 2006; Van Mil, Milona et al. 2007; Dixon, van Mil et al. 2009; Abu-Hayyeh, Papacleovoulou et al. 2013).

Recent work has shown that ICP offspring is predisposed to develop MetS in adulthood (Papacleovoulou, Abu-Hayyeh et al. 2013; Martineau, Raker et al. 2014). However, the mechanisms of MetS development in ICP offspring remain unresolved. During ICP, the placenta and child are both exposed to high bile acid levels. As a consequence, independent mechanisms may converge and hence contribute to programming of MetS risk in the offspring (Geenes and Williamson 2009). MetS in ICP offspring develops because of pathophysiological adaptations in metabolism that presumably result from epigenetic changes in specific organs or tissues. Although it has been reported that systemic DNA methylation is altered in ICP offspring (Papacleovoulou, Abu-Hayyeh et al. 2013), it is unknown which organs/issues and gene promoters are affected. Moreover, the relationship between epigenetic changes in specific tissues and the physiological mechanisms that constitute the MetS phenotype in ICP offspring remains to be established. Epigenetic changes induced by ICP are in turn driven by physiological changes during pregnancy and/or lactation such as altered placental function, changes in maternal breastmilk, and/or the composition of maternal microflora (Backhed 2011; Cabrera-Rubio, Collado et al. 2012; Aagaard, Ma et al. 2014; Kozyrskyj, Kalu et al. 2015; Rautava 2015; Ussar, Griffin et al. 2015; Wright and Starkweather 2015; Zheng, Xiao et al. 2015; Vitek, Zelenkova et al. 2010; Fouts, Torralba et al. 2012; Alaish, Smith et al. 2013). These need to be addressed as research has shown that placental function, milk composition and maternal microflora can all contribute to programming of MetS risk.

In summary, the [REDACTED] in child, mother, and placenta by which ICP induces metabolic programming and subsequently increases MetS risk are poorly understood. In order to define successful therapies for ICP that ensure long-term health of human ICP offspring hence reducing the global incidence of MetS, detailed fundamental investigation of the [REDACTED] is needed.

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?

The aim of this research is to understand the mechanisms underlying MetS risk in ICP offspring. We will investigate the pathophysiological adaptations that determine MetS risk in ICP offspring, as well as the [REDACTED] in ICP child, mother and placenta in relation to programming of MetS risk in ICP offspring.

[REDACTED]

[REDACTED]

3.3 Belang

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

MetS is a major health problem in modern societies and its incidence is rapidly increasing. It not only seriously impacts on the quality of life worldwide, but also imposes a financial and logistic burden to our healthcare system. Epidemiological studies have shown that a solid relationship exists between nutrition and metabolism in early life and MetS risk in adulthood. ICP has recently been identified as a risk factor for MetS development in humans. The underlying mechanisms and course of this 'early-life programming' are however poorly resolved and need to be elucidated in order to define preventive strategies to reduce MetS incidence in humans.

Fundamental insight into the [REDACTED] by which ICP impacts the metabolic health of the offspring is limited and should be improved to benefit our own research and that of fellow scientists. These insights are essential to optimize healthcare policy, and to define effective strategies to reduce MetS prevalence in humans. A lower MetS prevalence will in turn reduce morbidity and mortality and limit the cost of healthcare. Successful therapies will furthermore offer opportunities for the development of new drugs.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

This research aims to understand the mechanisms underlying MetS risk in ICP offspring. Given the lifespan of rodents, their proven usefulness for metabolic research for the human system, and the availability mouse strains that possess specific genetic properties, mouse models allow for detailed investigation of the origin of early-life induced metabolic programming within the timeframe of this project license.

For the purpose of this project, we will employ mouse models. ICP is multifactorial with environmental, hormonal, and genetic components. The contribution of these individual components has not been systematically addressed but is of importance in our mechanistic investigation of ICP-induced programming of MetS risk. Therefore we will employ genetically-altered, hormone-induced and dietary-challenged mice as ICP models. Previously published animal models for ICP (e.g. (Papacleovoulou, Abu-Hayyeh et al. 2013; Wu, Xu et al. 2015; Milona, Owen et al. 2010; Song, Vasilenko et al. 2014; Dixon, Weerasekera et al. 2000; Keitel, Vogt et al. 2006; Van Mil, Milona et al. 2007; Dixon, van Mil et al. 2009; Zhang et al. 2015) as well as epidemiological and clinical findings in human ICP form the basis for selection of models for maternal ICP.

The use of these different mouse models will enable us to dissect the role of different components on ICP-induced MetS risk in the offspring.

The first step in our mechanistic investigation is to characterize the course of MetS development in ICP offspring. To this end, we will perform a longitudinal analysis to monitor changes in the [redacted] of MetS in ICP versus non-ICP offspring. Because these models are based epidemiological and clinical studies in human ICP and published fundamental work on ICP we expect that the ICP offspring will be predisposed to develop MetS. In addition to this, ICP offspring will be subjected to dedicated [redacted] testing to reveal the origin of MetS development. Moreover, we will investigate the [redacted] that potentially contribute to ICP-induced programming. To this end we will collect tissues, fecal microbiome samples, breastmilk and placenta from ICP mothers/offspring.

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

To dissect the contribution of individual components associated with human ICP we will employ different ICP models, i.e. [redacted]

[redacted] Our research on the mechanisms of early-life programming of MetS risk in ICP offspring addresses both the [redacted] of ICP-induced MetS development, and [redacted] that constitute this 'programmed' MetS risk. Because the [redacted] of programming will be used to explain the mechanisms of MetS development, we will employ one 'type dierproef' that is composed of the following components:

1. Evaluation of the course of MetS development in ICP offspring.

ICP offspring will be generated and followed-up longitudinally into adulthood to define from what age MetS develops, and whether this occurs in both genders. To this end,

MetS development will be systematically analyzed at regular time points representing different life stages, i.e. early postnatal period, childhood, adolescence, and at two timepoints during adulthood, and once during adulthood be subjected to glucose and insulin tolerance tests. Female breeders will be sacrificed after weaning. Male breeders will be re-used whenever appropriate, and sacrificed when they cannot be used further. Offspring will be sacrificed at adult age.

2A. Investigation of the pathophysiological mechanisms of MetS risk in ICP offspring
After the course and affected gender(s) of MetS development have been established, ICP offspring of appropriate gender will be subjected to dedicated physiological analysis at a timepoint just prior to manifestation of the MetS to reveal its pathophysiological origin. Offspring will be sacrificed at the end of these physiological analyses. Female breeders will be sacrificed after weaning. Male breeders will be re-used whenever appropriate, and sacrificed when they cannot be used further.

2B. Investigation of the [REDACTED] underlying early-life programming of MetS risk in ICP offspring.

Tissues/organs from ICP offspring/mothers/placenta will be collected for [REDACTED]. The investigation of the potential mechanisms of ICP-induced programming requires the sacrifice of ICP mothers and offspring and subsequent sample collection at three different timepoints, hence three independent cohorts will be used. Multiple tissues/samples will be collected at the each of these three timepoints: 1) ICP placenta, fetal organs and maternal microflora samples will be collected prior to birth; 2) ICP breastmilk and maternal microflora samples will be collected during weaning; 3) organs/tissues will be collected from ICP offspring of appropriate gender at a timepoint just prior to MetS manifestation. In case 3 female breeders will be sacrificed after weaning. Male breeders will be re-used whenever appropriate, and sacrificed when they cannot be further used.

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.

The first step to fulfill our aim is to establish at what life stage first MetS develops in offspring of [REDACTED].

We will subsequently investigate the [REDACTED] of MetS in detail at an appropriate life stage using the appropriate [REDACTED] and investigate the [REDACTED] underlying ICP-induced programming.

Development of MetS in male and/or female ICP offspring will be used as a go/no go criterium for the investigation of [REDACTED] underlying ICP-induced programming.

Milestones

1. Characterization of MetS development in ICP offspring, focusing on [REDACTED]
 2. Dissection of the role of [REDACTED] in ICP-induced programming of MetS risk
 3. Elucidation of the [REDACTED] in ICP offspring associated with MetS risk
 4. Elucidation of the [REDACTED] associated with ICP-induced programming of MetS in ICP offspring
-

Our laboratory and animal facility possess the staff, equipment and (technical) expertise required for proper design and execution of the procedures, and the analysis of the results.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Unraveling the mechanisms of MetS development in ICP offspring
2	
3	
4	
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.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- | 1.1 | Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. | 10500 | | | | |
|------------|--|---|------------|----------------|---|--|
| 1.2 | Vul de naam van de instelling of organisatie in. | Rijksuniversiteit Groningen | | | | |
| 1.3 | Vul het volgnummer en het type dierproef in. | <table border="1"><thead><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>Unraveling the mechanisms of MetS development in ICP offspring</td></tr></tbody></table> | Volgnummer | Type dierproef | 1 | Unraveling the mechanisms of MetS development in ICP offspring |
| Volgnummer | Type dierproef | | | | | |
| 1 | Unraveling the mechanisms of MetS development in ICP offspring | | | | | |

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 order to elucidate the mechanisms of MetS development in ICP offspring, we will employ mouse models. These allow for evaluating the impact of ICP on MetS development in later life within a reasonable timeframe because mice reach adulthood at about 4 months of age. Furthermore, mice have multiple offspring thereby reducing the number of animals required for breeding.

For the purpose of this project, we will use mouse models. Because ICP has been linked to environmental, hormonal, and genetic factors our mechanistic investigation includes systematic dissection of these factors by using genetically-altered, hormone-induced and dietary-challenged mice as ICP models.

Previously published animal models for ICP [redacted] Song, Vasilenko et

al. 2014; Dixon, Weerasekera et al. 2000; Keitel, Vogt et al. 2006; Van Mil, Milona et al. 2007; Dixon, van Mil et al. 2009; Zhang et al. 2015) as well as epidemiological and clinical findings in human ICP form the basis for selection of models for maternal ICP. Specifically, we will employ [REDACTED]

[REDACTED] The use of these different mouse models will enable us to dissect the role of different components on ICP-induced MetS risk in the offspring. Because the [REDACTED] of programming will be used to explain the mechanisms of MetS development, we will employ one 'type dierproef' that is composed of the following components:

1. A longitudinal analysis in ICP offspring to define from what age MetS develops in ICP offspring, and which gender(s) is affected. Outcome from this analysis will reveal the course of MetS development and the affected gender. ICP offspring will be generated and followed-up longitudinally into adulthood and MetS development will be monitored. [REDACTED]

[REDACTED] Development of MetS in male and/or female ICP offspring will be used as a go/no go criterium for the investigation of [REDACTED] (2A and 2B).

2A. Investigation of the [REDACTED] underlying MetS development in ICP offspring using ICP offspring of affected gender(s) and appropriate age, as determined in the longitudinal analysis (1). These tests will be performed at a timepoint just prior to the manifestation of the MetS component only using the appropriate gender(s). Outcome of these studies will reveal the pathophysiological metabolic adaptations, and will be used to mechanistically explain MetS development in ICP offspring.

2B. [REDACTED] of the mechanisms underlying early-life programming of MetS risk in ICP offspring. This will be performed in parallel to 2A. Because the 'programming' mechanisms (described in section 3.1 of the 'projectvoorstel') operate in different developmental stages, i.e. during ICP pregnancy when the fetus/placenta are exposed to high bile acid levels, or during lactation when the offspring is exposed to ICP-breastmilk, we will collect samples for [REDACTED] during both pregnancy and weaning. Because tissue collection requires sacrifice of the animals, three independent cohorts (pregnancy, weaning, time of MetS) are required per ICP model. Placentophagy is common in mice, [REDACTED] of placenta therefore requires sample collection during pregnancy. Importantly, different tissues/samples will be collected during pregnancy and weaning to investigate multiple mechanisms. In addition to this, [REDACTED] should persist in later life to cause a change in metabolism. Therefore tissue will also be collected at the time that MetS was shown to first manifest to confirm that the [REDACTED] are maintained. These samples will also be used to confirm the contribution of specific organs/tissues to the pathophysiological mechanisms underlying MetS development, and to relate [REDACTED] in specific tissues to the [REDACTED] of MetS development. Outcome of these mechanistic investigations will be used to explain how maternal ICP results in programming of MetS risk in the offspring.

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.

Based on epidemiological and clinical studies in human ICP and published animal models for ICP [REDACTED]

[REDACTED] The use of these different mouse models will enable us to dissect the role of different components on ICP-induced MetS risk in the offspring.

For 1, 2A and 2B ICP females will be mated with males to induce pregnancy. Prior to mating, a non-pregnant reference blood sample is drawn from each female. Body weight and food intake of the dams will be monitored regularly and blood and feces will be collected from dams during the third trimester of pregnancy to confirm ICP development. A maximum of 8 mL blood/kg body weight will be drawn from dams over a period of 14 days. Dams will be sacrificed

under general anesthesia after weaning of the offspring. Male breeders will either be offered for re-use by other researchers or sacrificed once they cannot be further used for reproductive purposes.

1. Longitudinal analysis. ICP offspring will be generated using the same procedure as described. Male and female offspring from ICP dams will be followed-up from birth and housed individually from weaning. Half of the offspring will be fed a customized diet to promote MetS development. Body weight and food intake will be monitored regularly.

To evaluate MetS development, analyses (all classified as 'licht' discomfort) will be performed at different life stages, i.e. at the end of childhood, at the end of adolescence, and at two different timepoints during adulthood. Animals will be housed individually during this longitudinal analysis to enable accurate and regular evaluation of body weight and food intake. This allows for careful monitoring of metabolic syndrome development during different life stages using regular time intervals and accurate evaluation of food intake. In case of blood collection, a maximum of 8 mL blood/kg body weight will be drawn over a period of 14 days.

The following analyses will be performed after an overnight fast (drinking water available):'

-glucose analysis in a small drop of blood collected by tail bleeding

-body weight measurement

-body composition analysis using MRI

Minispec-MRI will be performed in conscious animals during 0.5-3 minutes.

-indirect calorimetry

Animals will be placed in calorimetric cages during 72 hours to assess oxygen consumption and carbon dioxide production as measures for energy expenditure and substrate utilization. Feces produced during this analysis will be collected and analyzed for energy, lipid and bile acid excretion.

-blood sample collection for plasma insulin/triglyceride/(HDL-)cholesterol/bile acid analysis

At 19 weeks of age offspring will be subjected to a Glucose tolerance test (GTT) ('licht' discomfort).

Animals are subjected to an overnight fast (drinking water available). On the morning of the test, a control blood glucose and blood sample are drawn via tail bleeding. The animals subsequently receive a bolus of glucose (either by oral gavage or intraperitoneal injection). Blood glucose is measured in tail blood every 15 minutes during 180 minutes. In addition after 15, 30 and 45 minutes blood samples are drawn by tail bleeding for insulin analysis.

At 21 weeks of age offspring will be subjected to an Insulin tolerance test ('licht' discomfort).

Animals are subjected to an overnight fast (drinking water available). On the morning of the test, a control blood glucose and blood sample are drawn via tail bleeding. The animals subsequently receive a bolus of insulin (by intraperitoneal injection). Blood glucose is measured in tail blood after 5 minutes, and subsequently every 15 minutes during 120 minutes.

At 25 weeks of age offspring will be sacrificed under general anesthesia after a postprandial fast (i.e., in the light phase). They will receive ¹³C-sodium acetate via the drinking water during the final 24 hours prior to sacrifice.

The longitudinal analysis will reveal at which life stage ICP offspring develops MetS, and which gender(s) is affected. The next step is to investigate the [redacted] of these metabolic changes. Based the outcome of the longitudinal analysis it will be decided at which life stage(s) [redacted] require investigation and whether males and/or females will be studied (go/no go).

2A. [redacted] of MetS development. ICP offspring will be generated using the same procedure as described. Male and/or female offspring (go/no go) from ICP dams will be followed-up from birth until the age at which development of MetS was first observed during the longitudinal analysis, and housed individually from weaning to enable accurate and regular evaluation of body weight and food intake. The offspring will be fed a customized diet to promote MetS development. Body weight and food intake will be monitored regularly. To reveal the [redacted] origin of MetS, two types of [redacted]

tests (A and B) will be performed at the timepoint just prior to when MetS was first observed in the longitudinal analysis. Because these physiological tests require organ/tissue and blood collection, animals will be sacrificed directly after completion of the test for further analysis.

-Physiological test A: oral or intraperitoneal administration followed by sampling of blood and/or bile ('licht' discomfort)

-Physiological test B: continuous intravenous infusion via a permanent jugular vein catheter in combination with sampling of blood and/or bile ('matig' discomfort)

List of possible [REDACTED] tests A:

- VLDL production. On the morning of the test, a control blood sample is drawn after which the animals receive an intraperitoneal injection with [REDACTED]. After 30, 60 and 240 minutes, blood samples are drawn. Directly following blood collection at t=240 minutes, the animals are sacrificed under general anesthesia. Tissues are quickly excised and stored until further analysis.

- A control blood sample is drawn after which the animals receive an intraperitoneal injection with either [REDACTED] or saline. A lipid emulsion is subsequently administered by oral gavage. After 30, 60, 90, 120, 180 and 240 minutes, small blood samples are drawn. Directly following blood collection at t=240 minutes, the animals are sacrificed under general anesthesia. Tissues are quickly excised and stored until further analysis.

- [REDACTED] Animals will receive a bolus of [REDACTED] under general anesthesia. Small blood samples will be obtained from the tail vein every 24 hours for 10 days. Starting day 7 after cholesterol administration, animals will receive [REDACTED] acetate via the drinking water. On day 10, animals will be anesthetized and placed on a heating pad to maintain body temperature during cannulation. After ligation of the common bile duct close to the duodenum, the gallbladder will be cannulated under general anesthesia. Bile will be collected for 30 minutes after which the animals are sacrificed.

- Bile cannulation. Animals will be anesthetized and placed on a heating pad to maintain body temperature during cannulation. After ligation of the common bile duct close to the duodenum, the gallbladder will be cannulated under general anesthesia. Bile will be collected for 30 minutes after which the animals are sacrificed.

- [REDACTED] Animals will receive a bolus of [REDACTED] under general anesthesia. Blood samples will be obtained from the tail vein after 12, 24, 36 and 48 hours. After 60 hours, animals will be anesthetized and placed on a heating pad to maintain body temperature during cannulation. After ligation of the common bile duct close to the duodenum, the gallbladder will be cannulated under general anesthesia. Bile will be collected for 30 minutes after which the animals are sacrificed.

List of possible [REDACTED] tests B:

- [REDACTED] Animals are implanted with a jugular vein catheter under general anesthesia and allowed a recovery period of at least 4 days. They are placed in special cages and subjected to an overnight fast (drinking water available). On the morning of the test, a control blood glucose and sample are drawn via tail bleeding and the infusion lines are connected to the external part of the canula under brief isoflurane anesthesia. During 360 minutes, [REDACTED]

[REDACTED] is measured in tail blood every 15 minutes. In addition, every 30 minutes, a blood sample is drawn by tail bleeding and spotted on filter paper. Voluntary urine samples are also collected over 30-minute intervals as the animals continuously urinate during the test on the filter paper that is placed under the cage. At the end of the test, the infusion lines are disconnected and the animals are sacrificed under general anesthesia. Tissues are quickly excised and stored until further analysis.

- VLDL catabolism. Animals are implanted with a jugular vein catheter under general anesthesia and allowed a recovery period of at least 4 days. On the morning of the test, a control blood sample is drawn and the infusion lines are connected to the external part of the canula under brief isoflurane anesthesia. During 90 minutes, animals are infused with a solution containing radiolabeled VLDL. After 1, 5, 10, 30, 60 and 90 minutes, blood samples are drawn.

Directly following blood collection at t=90 minutes, the infusion lines are disconnected and the animals are sacrificed under general anesthesia. Tissues are quickly excised and stored until further analysis.

- Fatty acid turnover. Animals are implanted with a jugular vein catheter under general anesthesia and allowed a recovery period of at least 4 days. On the morning of the test, a control blood sample is drawn and the infusion lines are connected to the external part of the canula under brief isoflurane anesthesia. During 360 minutes, animals are infused with a solution containing ¹³C-palmitate. After 120, 300 and 360 minutes, blood samples are drawn. Directly following blood collection at t=360 minutes, the infusion lines are disconnected and the animals are sacrificed under general anesthesia. Tissues are quickly excised and stored until further analysis.

- Bile cannulation and infusion. Animals are implanted with a jugular vein catheter under general anesthesia and allowed a recovery period of at least 4 days. Animals will be anesthetized and placed on a heating pad to maintain body temperature during cannulation. After ligation of the common bile duct close to the duodenum, the gallbladder will be cannulated under general anesthesia. Bile will be collected for 30 minutes, after which the animals will be continuously infused with bile salts for 3 hours via the jugular vein. Bile will be collected during bile salt infusion. At the end of the infusion period the animals are sacrificed.

2B. [REDACTED] of MetS programming. The [REDACTED] of programmed MetS risk in ICP offspring will be studied in parallel to the [REDACTED] of MetS development (2A). ICP offspring will be generated using the same procedure as described. To investigate the [REDACTED] that contribute to ICP-induced metabolic programming, we will collect samples at 3 different life stages, and therefore 3 independent ICP cohorts are required.

- [REDACTED] of ICP.

At day 18.5 of pregnancy, dams will be sacrificed under general anesthesia. Maternal and fetal blood and organs, as well as placenta will be collected for [REDACTED]

[REDACTED] during ICP-lactation.

After delivery, maternal breastmilk will be collected once during the first week of lactation (100 uL; 'matig' discomfort). To this end, the dam will be separated for 2 hours from her pups, during which the pups are housed in a temperature-controlled environment. First a blood sample will be drawn after which the dam receives an injection of oxytocin. Then milk is collected during 5-10 minutes under general anesthesia using an adjusted human milking device. During milking the dam is placed on a heating mat to maintain body temperature.

After 2 weeks of lactation, dams and offspring will be sacrificed under general anesthesia. Maternal and fetal blood and organs will be collected for [REDACTED]

[REDACTED] Maternal and offspring feces will be collected from intestines for [REDACTED]

- [REDACTED] at the time of MetS manifestation.

Male and/or female offspring (go/no go) from ICP dams will be followed-up from birth until the age at which development of MetS was first observed during the longitudinal analysis, and housed individually from weaning to enable accurate and regular evaluation of body weight and food intake. The offspring will be fed a customized diet to promote MetS development. Body weight and food intake will be monitored regularly. At the timepoint just prior to when MetS was first observed in the longitudinal analysis, offspring will be sacrificed under general anesthesia. Blood and organs will be collected for [REDACTED]

[REDACTED] Feces will be collected from intestines for [REDACTED]

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

The number of animals required for these procedures is based on power calculations using historical data from our laboratory. The use of mouse models for this research reduces the number of breeding pairs required to generate sufficient numbers of female and male offspring required for our studies, because rodents generate multiple offspring per pregnancy. Male breeders and offspring of non-affected gender will be re-used whenever possible.

B. De dieren

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

All animals will either be bred in our own facility, or purchased from commercial sources (from both inside and outside the EU). [REDACTED]

We will employ female and male mice of reproductive age as breeders to generate offspring. Given the inter-dam variation we consider each litter as an experimental unit for statistical analyses. Therefore our Power Analysis is based on the number of pregnant females. The parameters used for Power Analysis are: alpha 0.05, power 0.90, effect 25% and VC 15%. This results in 9 pregnant females per condition. Our experience is that 2 out of 3 females actually become pregnant. Male breeders can be repetitively used. Taken this into account, we expect that on average $(9 \times 3/2) = 14$ females are required to generate the amount of female/male off-spring required to evaluate the impact of ICP on metabolic health for each ICP model (and thus that 5 females will not become pregnant). Male breeders will be re-used, and we expect that, on average, one male will be mated with at least 2 females. Therefore 7 males are required to generate sufficient offspring. Appropriate genetic controls for the ICP dams is required, this will consequently require a plurality of 14 female and 7 male breeders. For each 9 successful pregnancies about 18 female and 18 male offspring will be generated. [REDACTED]

Because each ICP model needs a control group we will need twice as much female breeders and ICP offspring. [REDACTED]

The procedures and associated discomfort for individual animals and estimated maximal numbers for the longitudinal analysis (1) will be:

The procedures and associated discomfort for individual animals and estimated maximal numbers for the physiological tests in ICP offspring (2A) will be:

Genetic ICP dams (BSEP): blood draw (2x), mating, weighing, sacrifice at weaning; leading to 54 (9x3x2) animals experiencing 'licht' discomfort.

Dietary ICP dams: diet, blood draw (2x), mating, weighing, sacrifice at weaning; leading to 36 (9x2x2) animals experiencing 'licht' discomfort.

Hormonal ICP dams: diet, blood draw (2x), mating, i.p. injections, weighing, sacrifice at weaning; leading to 36 (9x2x2) animals experiencing 'licht' discomfort.

Non-pregnant females: blood draw (1x), mating, weighing, sacrifice; leading to 70 (5x7x2) animals experiencing 'licht' discomfort.

Male breeders: mating; leading to 98 (7x7x2) animals experiencing 'licht' discomfort. Male breeders will be re-used whenever possible, we expect that they will on average be mated with 2 females.

ICP and control offspring subjected to [REDACTED] test A: 216 (36x3x2) animals experiencing 'licht' discomfort.

ICP and control offspring subjected to [REDACTED] test B: 216 (36x3x2) animals experiencing 'matig' discomfort.

[REDACTED] offspring from genetic ICP dams: sacrifice at weaning; leading to 72 (36x2) animals experiencing 'terminal' discomfort.

In total, the [REDACTED] tests will maximally involve 510 animals experiencing 'licht' discomfort, 216 animals experiencing 'matig' discomfort and 72 animals experiencing 'terminal' discomfort. The numbers of ICP offspring represent the 'worst case scenario' because only the affected gender will be used (go/no go).

[REDACTED]

In total, the [REDACTED] will maximally involve 378 animals experiencing 'licht' discomfort, 63 animals experiencing 'matig' discomfort, and 756 animals experiencing 'terminal' discomfort. The numbers of ICP offspring represent the 'worst case scenario' because only the affected gender will be used for [REDACTED] investigation at the time of MetS manifestation (go/no go).

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.

Male breeders can be used repetitively to generate offspring for multiple procedures. Male breeders that can no longer be used for reproductive purposes, as well as offspring from non-affected gender, can be offered for re-use by other researchers. Male animals of reproductive age and appropriate genetic background from other experiments that have not been subjected to any treatment can potentially serve as breeders for these procedures.

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.

Verfijning: Procedures are designed in such a way to minimize stress and discomfort. Anesthesia and painkilling will be employed whenever appropriate. In case anesthesia is not absolutely necessary, alternative approaches will be used, e.g. tail bleeding instead of retro-orbital puncture. Procedures will be executed by trained and experienced staff.

Vervanging: MetS is a systemic disorder that involves intra organ/tissue interactions. The study of this disease therefore requires the use of intact organisms. Moreover the study of ICP requires an intact maternal-fetal/newborn interaction. Altogether, the current studies do not allow for alternative approaches for animal experimentation.

Vermindering: Male breeders will be re-used whenever possible. For the longitudinal analysis, we will use the same cohort of ICP offspring for multiple measures of metabolic health. Whenever possible [REDACTED] we will use the same cohort of ICP offspring for multiple procedures and analyses. We will perform power analyses using historical data available in our laboratory to define the minimal amount of animals required for these studies. [REDACTED] tests and analytical techniques available in our laboratory have been optimized in such way that tissues/blood collected from 1 animal retrieves n=1 outcome (i.e., pooling of samples is not required).

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.

Animals will be handled and monitored on a regular basis to reduce stress and to identify potential discomfort as early as possible. For procedures requiring invasive manipulation, anesthesia and/or painkilling will be applied. Potential environmental-polluting waste will be collected appropriately.

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.

We have performed thorough analysis of existing literature and continue to monitor newly published work in this field of research. We will only perform procedures that have not been executed as such according to the literature.

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.

Animals need be housed individually to allow for of quantification of food intake, to allow for feces collection, and to standardize the number of animals per cage. This is critical as differences in the number of animals per cage may impact on systemic energy metabolism (e.g. more animals per cage reduces heat loss). Moreover, as 2A and 2B will provide mechanistic insights into phenotypic observations in the longitudinal analyses, the conditions including housing should be in accordance. For tests that require jugular vein catheters, the use of paper tunnels as cage enrichment should be omitted because of potential

damage to the external part of the canula.

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?

Stress and discomfort

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Individual housing may cause stress/discomfort. Dietary/hormonal treatment may induce unexpected stress/discomfort, this is however very unlikely.

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

We will monitor the animals regularly and reconsider continuation of treatments in case of unacceptable stress/discomfort.

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.

- In case animals exhibit abnormal behavior (e.g. inactivity, excessive stress signals), abnormal posture (ruffled fur, hunched back) or excessive weight loss (>15%) they will be terminated to prevent further discomfort.
- During surgery, animals will be terminated in case of excessive bleeding.

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

<10% (overall)

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-Matig

All procedures involving breeders are in principle classified as 'licht' discomfort. In case of longitudinal analysis of MetS development, animals will be allowed to recover until the next set of analyses is performed. It is estimated that 52% of the procedures 'licht' discomfort, 36% imposes 'terminal' discomfort, and 12% of the procedures imposes 'matig' discomfort (see section B, de dieren). Male breeders that can no longer be used for breeding and offspring of non-affected gender will be offered to other researchers.

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.

The animals will be sacrificed to allow for organ/tissue/blood collection.

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

Format DEC-advies

Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de bijbehorende toelichting, waarin elke stap in het beoordelingsproces wordt toegelicht

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: (Interne RUG code **8046**)
2. Titel van het project: **Programming of Metabolic Syndrome by Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy.**
3. Titel van de NTS: **Programmering van metabool syndroom door zwangerschapscholestase.**
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning**
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: **DEC-RUG**
 - telefoonnummer contactpersoon: XXXXXXXXXX
 - mailadres contactpersoon: XXXXXXXXXX
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC op : **13-01-2016**
 - aanvraag compleet: **13-01-2016**
 - in vergadering besproken op : **21-01-2016**
 - anderszins behandeld: **14-03-2016**
 - termijnonderbreking(en) van / tot: **25-01-2016 tot 14-03-2016**
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen **n.v.t.**
 - aanpassing aanvraag: **14-03-2016**
 - advies aan CCD: **06-04-2016**
7. Eventueel horen van aanvrager **n.v.t.**
 - Datum:
 - Plaats:
 - Aantal aanwezige DEC-leden:
 - Aanwezig:
 - 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: **25-01-2016**

- Strekking van de vraag / vragen:

- **Algemene opmerking t.a.v. de aanvraag:**

In het kader van de ethische afweging m.b.t. deze aanvraag is door de DEC gesproken over het ethisch belang van dit werk. De DEC merkt op dat het 'directe' belang bij dit werk – doelend op uitkomsten van het onderzoek die per direct voordeel opleveren voor de gezondheid van de mens- verminderd aanwezig is. Immers, eventuele voordelen zullen zich pas heel veel later in de levensloop van nakomelingen openbaren. De DEC hoort graag uw visie op dit ethische aspect van het onderzoek, dit om tot een goede vollediger ethische afweging te komen.

- **Opmerkingen/vragen t.a.v. projectvoorstel:**

Bij 2. categorie: enkel fundamenteel onderzoek is aangekruist, terwijl translationeel onderzoek ook van betekenis lijkt. Hoe ziet u dit?

- **Opmerkingen/vragen t.a.v. bijlage 1**

[Redacted text]

- **Opmerkingen/vragen t.a.v. NTS**

Onder 2.1 is enkel fundamenteel onderzoek aangekruist, terwijl translationeel onderzoek ook van betekenis lijkt. Hoe ziet u dit?

- Datum antwoord: **14-03-2016**

- Strekking van het (de) antwoord(en): **De gevraagde verduidelijkingen zijn verwerkt in het projectvoorstel en de bijlages. De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.**

9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC) **n.v.t.**

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

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet) **Ja.**
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag. **Ja.**

3. De DEC is competent om hierover te adviseren. **Ja, het betreft immers een door de CCD goedgekeurde DEC.**
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering. **NVT.**

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:
 - **uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord**
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) is / zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en). **Ja.**
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als **substantieel.**
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Naar de overtuiging van de DEC beschikt de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen om de projectdoelstelling met de gekozen strategie / aanpak binnen de gevraagde termijn te realiseren.
5. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd. **NVT.**
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen.**
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Zo wordt zoveel als mogelijk monsternamen bevorderd binnen hetzelfde dier [REDACTED] [REDACTED] ondermeer door sequentiële uitvoering van de proefnemingen beschreven in de bijlage. Het maximale aantal te gebruiken dieren lijkt realistisch ingeschat. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt.

9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven ondermeer door adequate pijnbestrijding in voorkomende gevallen. Het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. 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

Het metabool syndroom is een belangrijke risicofactor voor hart- en vaatziekten en suikerziekte type 2. Bij de mens zijn hart- en vaatziekten en suikerziekte belangrijke oorzaken van sterfte en de prevalentie hiervan neemt toe. Alhoewel er preventieve en curatieve mogelijkheden zijn bij het metabool syndroom in individuele gevallen speelt ook 'early-life programming' een belangrijke rol. Het onderhavige onderzoek heeft met name als doel het effect van zogenoemde 'early-life programming' op het voorkomen van het metabool syndroom bij nakomelingen in beeld te brengen in een muismodel van drachtigheidscholestase teneinde maatregelen ter preventie beter vorm te kunnen geven. Een te ontwikkelen model van drachtigheidscholestase zal worden gebruikt om de programmering van het metabool syndroom in beeld te brengen. Goed is uitgewerkt via welke wegen het onderzoek wordt ingestoken, waarbij goede aandacht is voor duidelijk omschreven go/no go momenten. Zo zal het onderzoek bij een bepaald levensstadium en geslacht niet worden uitgevoerd wanneer de inductie van het metabool syndroom hierbij faalt. In het volgende go/no go beslismoment zal onderzoek naar het pathofysiologische mechanisme van een metabool pad achterwege blijven als de screening hiervan negatief verloopt. Eveneens zijn de interventies met verlagers van de galzuurconcentratie in het perifere bloed alsmede anti-oxidanten go/no go momenten. De onderzoeksgroep is bij uitstek gekwalificeerd voor het uitvoeren van dit onderzoek en beschikt over voldoende expertise om te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt.

Het voorgestelde proefdieronderzoek aan de muis heeft als doel het ontrafelen van de rol van 'early-life programming' van het metabool syndroom bij

nakomelingen en overeenkomstig de vraagstelling in het projectvoorstel aanvraagformulier is het onderzoeksproject gefundeerd op vier onderzoeksdoelen te weten [REDACTED]

[REDACTED] Per onderzoeksdoel is de wetenschappelijke navolgbaarheid goed in beeld gebracht en zijn de aantallen benodigde dieren inzichtelijk onderbouwd met daarbij aandacht voor de 3 V's. . Naar de mening van de DEC-RuG is het aldus geworden tot een toetsbare eenheid ten aanzien van het ontrafelen van de rol van 'early-life programming' van het metabool syndroom bij nakomelingen.

De doeleinden van het project rechtvaardigen het voorgestelde gebruik van muizen en het daarbij beschreven ongerief. Het is uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord en het is waarschijnlijk dat de doeleinden worden gehaald. Op termijn kan het project mogelijk voordelen opleveren voor de preventie van metabool syndroom uitgesplitst naar leeftijdscategorie (inclusief 'early-life programming') alsmede leiden tot de ontwikkeling van nieuwe behandelstrategieën. De onderzoekers hebben daarmee – in antwoord op de vraag dienaangaande vanuit de DEC - aangetoond dat hun onderzoek naar het voorkomen van aandoeningen op latere leeftijd tot zinvolle en maatschappelijk relevante resultaten kan leiden.

Op grond van alle voor de afweging relevante argumenten komt de DEC-RuG tot de conclusie dat dit onderzoek ethisch toets- en toelaatbaar is en derhalve adviseert zij de CCD tot vergunningverlening.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning te verlenen**

Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A/ Deusinglaan

9713 AV GRONINGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD105002016485

Bijlagen

2

Datum 18 maart 2016

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 18 maart 2016.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD105002016485. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

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

Factuur

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

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 10500
Naam instelling of organisatie: Rijksuniversiteit Groningen
Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: 1179037
Straat en huisnummer: A/ Deusinglaan [REDACTED]
Postcode en plaats: 9713 AV GRONINGEN
IBAN: NL80ABNA0446049352
Tenaamstelling van het rekeningnummer: Rijksuniversiteit Groningen

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

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

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
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 april 2016
Geplande einddatum: 1 april 2021
Titel project: Programming of Metabolic Syndrome by Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy
Titel niet-technische samenvatting: Programmering van Metabool Syndroom door zwangerschapscholestase
Naam DEC: DEC-RuG
Postadres DEC: A. Deusinglaan 1, [REDACTED]
E-mailadres DEC: secrdec.umcg@umcg.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 935,-
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: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Plaats: GRONINGEN



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A/ Deusinglaan

9713 AV GRONINGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD105002016485

Bijlagen

2

Datum 18 maart 2016

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 18 maart 2016

Vervaldatum: 17 april 2016

Factuurnummer: 16700485

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD105002016485	€ 935,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL41RBOS 056.999.6317 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.

Van: Info-zbo
Verzonden: donderdag 31 maart 2016 16:10
Aan: [REDACTED]
Onderwerp: vraag bij DEC advies AVD105002016485 RUG code 8046

Geachte leden van DEC RUG,

Bij de CCD is een aanvraag voor projectvergunning ingediend waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het betreft het project: Programming of Metabolic Syndrome by Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy, met aanvraagnummer AVD105002016485. Bij u waarschijnlijk bekend onder de code 8046.

Allereerst wil de CCD u bedanken voor uw uitgebreide advies. U adviseert de CCD om een voorwaarde aan de projectvergunning te verbinden; namelijk dat de dieren maximaal 48 uur in een metabole kooi gehuisvest mogen worden.

In de aanvraag wordt beschreven dat de dieren gedurende 72 uur in een calorimetrische kooi geplaatst worden. Is dit waar de DEC een beperking van 48 uur aan wil verbinden?

Voor zover bij ons bekend blijven de dieren bij een calorimetrische meting in de thuishok en wordt slechts de deksel aangepast, en heeft dit geen nadelige impact op het welzijn van het dier of zorgt dit voor extra ongerief.

ter aanvulling zouden wij graag van u vernemen waarom u adviseert om deze voorwaarde aan de vergunning te verbinden.

Met vriendelijke groet, [REDACTED]

Centrale Commissie Dierproeven
www.centralecommissiedierproeven.nl

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

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl (let op: nieuw emailadres!)

Van: [REDACTED]
Verzonden: woensdag 6 april 2016 9:19
Aan: Info-zbo
Onderwerp: RE: vraag bij DEC advies AVD105002016485 RUG code 8046

Categorieën: [REDACTED]

Beste [REDACTED]

Het blijkt dat de aanvrager in de meest recente versie van de bijlage een aanpassing heeft gedaan waarbij de passage m.b.t. gebruik metabole kooien is verwijderd. De DEC-RUG verzoekt aanvragers altijd nadrukkelijk om aan te geven of er tekst is veranderd, waar die is veranderd en hoe de nieuwe tekst eruit ziet. De aanvrager heeft in de laatste versie verzuimt om dit aan te geven en de DEC was niet alert genoeg op de kennelijke aanpassing. Na evaluatie blijkt dat het advies kan blijven staan, maar dat inderdaad de voorwaarde kan komen te vervallen. Excuses voor deze verwarring. Wij sturen u via Net FTP een aangepast DEC advies (file naam: ' DEC advies AVD105002016485_ [REDACTED]

Vriendelijk groeten,
 Aalzen de Haan
 Secretaris DEC-RUG

From: Info-zbo [<mailto:info@zbo-ccd.nl>]
Sent: donderdag 31 maart 2016 16:10
To: [REDACTED]
Subject: vraag bij DEC advies AVD105002016485 RUG code 8046

Geachte leden van DEC RUG,

Bij de CCD is een aanvraag voor projectvergunning ingediend waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het betreft het project: Programming of Metabolic Syndrome by Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy, met aanvraagnummer AVD105002016485. Bij u waarschijnlijk bekend onder de code 8046.

Allereerst wil de CCD u bedanken voor uw uitgebreide advies. U adviseert de CCD om een voorwaarde aan de projectvergunning te verbinden; namelijk dat de dieren maximaal 48 uur in een metabole kooi gehuisvest mogen worden. In de aanvraag wordt beschreven dat de dieren gedurende 72 uur in een calorimetrische kooi geplaatst worden. Is dit waar de DEC een beperking van 48 uur aan wil verbinden?

Voor zover bij ons bekend blijven de dieren bij een calorimetrische meting in de thuishooi en wordt slechts de deksel aangepast, en heeft dit geen nadelige impact op het welzijn van het dier of zorgt dit voor extra ongerief.

ter aanvulling zouden wij graag van u vernemen waarom u adviseert om deze voorwaarde aan de vergunning te verbinden.

Met vriendelijke groet, [REDACTED]

Centrale Commissie Dierproeven
www.centralecommissiedierproeven.nl

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

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl (let op: nieuw emailadres!)

De inhoud van dit bericht is vertrouwelijk en alleen bestemd voor de geadresseerde(n). Anderen dan de geadresseerde(n) mogen geen gebruik maken van dit bericht, het niet openbaar maken of op enige wijze verspreiden of vermenigvuldigen. Het UMCG kan niet aansprakelijk gesteld worden voor een incomplete aankomst of vertraging van dit verzonden bericht.

The contents of this message are confidential and only intended for the eyes of the addressee(s). Others than the addressee(s) are not allowed to use this message, to make it public or to distribute or multiply this message in any way. The UMCG cannot be held responsible for incomplete reception or delay of this transferred message.

Van: Info-zbo
Verzonden: maandag 18 april 2016 12:16
Aan: [REDACTED]
Onderwerp: vraag aanvullende toelichting DEC advies AVD105002016485

Geachte leden van DEC-RUG,

Bij de CCD is een aanvraag tot projectvergunning ingediend waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het betreft de aanvraag "Programming of Metabolic Syndrome by Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy", met aanvraag nummer AVD105002016485 Interne RUG code 8046.

U heeft al een inhoudelijke vraag beantwoord over deze projectaanvraag, maar bij de behandeling is gebleken dat er behoefte is aan een toelichting op de ethische afweging. Dit om het dossier volledig te maken. U beschrijft in het advies dat u met de onderzoeker heeft gecorrespondeerd, en in een algemene opmerking ten aanzien van de aanvraag heeft u de onderzoeker gevraagd om een visie op het ethisch aspect van dit onderzoek om dat het "directe belang" van dit werk verminderd aanwezig is. Het antwoord van de onderzoeker is niet opgenomen in het DEC advies, wij vernemen graag van u de visie van de onderzoeker,

Met vriendelijke groet, [REDACTED]

Centrale Commissie Dierproeven
www.centralecommissiedierproeven.nl

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

T: 0900 2800028
E: info@zbo-ccd.nl (let op: nieuw emailadres!)

[REDACTED]

Van: [REDACTED]
Verzonden: maandag 18 april 2016 12:24
Aan: Info-zbo
Onderwerp: RE: vraag aanvullende toelichting DEC advies AVD105002016485

Categorieën: [REDACTED]

Beste [REDACTED]

Hierbij stuur ik u het antwoord van de onderzoeker (weergegeven in 'bold') t.a.v. het ethische aspect. Zie tekst hieronder.

Vr. gr.
[REDACTED]
[REDACTED]

'Algemene opmerking t.a.v. de aanvraag:

In het kader van de ethische afweging m.b.t. deze aanvraag is door de DEC gesproken over het ethisch belang van dit werk. De DEC merkt op dat het 'directe'

belang bij dit werk – doelend op uitkomsten van het onderzoek die per direct voordeel opleveren voor de gezondheid van de mens- verminderd aanwezig is.

Immers, eventuele voordelen zullen zich pas heel veel later in de levensloop van nakomelingen openbaren. De DEC hoort graag uw visie op dit ethische aspect van het onderzoek, dit om tot een goede vollediger ethische afweging te komen.

Ik begrijp uw discussie over het directe belang. Zoals in de achtergrond van de projectaanvraag is beschreven zijn de bestaande therapieën voor de behandeling van het Metabool Syndroom slechts in beperkte mate succesvol. De mogelijkheden om de incidentie van Metabool Syndroom op korte termijn terug te dringen zijn dus niet/onvoldoende beschikbaar. Wanneer het ontstaan van Metabool Syndroom wordt voorkomen, zal onderzoek dat kan bijdragen aan preventieve strategieën mogelijk meer voordeel opleveren voor de gezondheid van de mens dan de bestaande therapieën. Daarnaast zal preventie leiden tot een verlaging van de kosten voor het onderzoek naar/vaststellen van Metabool Syndroom bij kinderen van moeders met zwangerschapscholestase, en de reeds bestaande morbiditeit op het moment van diagnose voorkomen. Daarnaast kunnen de fundamentele inzichten die dit onderzoek zal opleveren over de relatie tussen [REDACTED]

[REDACTED] ontregelen mogelijk ook op kortere termijn tot gezondheidswinst bij de mens leiden. Wanneer deze mechanismen ook optreden bij andere vormen van cholestase kunnen de nieuwe inzichten mogelijk bijdragen aan verbeterde therapieën voor deze aandoeningen. Samenvattend ben ik van mening dat, gezien de huidige beperkingen voor therapeutische interventie, het belang van dit onderzoek het gebruik van dierproeven rechtvaardigt. '

From: Info-zbo [<mailto:info@zbo-ccd.nl>]
Sent: maandag 18 april 2016 12:16
To: [REDACTED]
Subject: vraag aanvullende toelichting DEC advies AVD105002016485

Geachte leden van DEC-RUG,

Bij de CCD is een aanvraag tot projectvergunning ingediend waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het betreft de aanvraag "Programming of Metabolic Syndrome by Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy", met aanvraag nummer AVD105002016485 Interne RUG code 8046.

U heeft al een inhoudelijke vraag beantwoord over deze projectaanvraag, maar bij de behandeling is gebleken dat er behoefte is aan een toelichting op de ethische afweging. Dit om het dossier volledig te maken. U beschrijft in het advies dat u met de onderzoeker heeft gecorrespondeerd, en in een algemene opmerking ten aanzien van de aanvraag heeft u de onderzoeker gevraagd om een visie op het ethisch aspect van dit onderzoek om dat het "directe belang" van dit werk verminderd aanwezig is. Het antwoord van de onderzoeker is niet opgenomen in het DEC advies, wij vernemen graag van u de visie van de onderzoeker,

Met vriendelijke groet, ██████████

Centrale Commissie Dierproeven
www.centralecommissiedierproeven.nl

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

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl (let op: nieuw emailadres!)

De inhoud van dit bericht is vertrouwelijk en alleen bestemd voor de geadresseerde(n). Anderen dan de geadresseerde(n) mogen geen gebruik maken van dit bericht, het niet openbaar maken of op enige wijze verspreiden of vermenigvuldigen. Het UMCG kan niet aansprakelijk gesteld worden voor een incomplete aankomst of vertraging van dit verzonden bericht.

The contents of this message are confidential and only intended for the eyes of the addressee(s). Others than the addressee(s) are not allowed to use this message, to make it public or to distribute or multiply this message in any way. The UMCG cannot be held responsible for incomplete reception or delay of this transferred message.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan1

9713 AV GRONINGEN

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl

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

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD105002016485

Uw referentie

Bijlagen
1

Datum 26 april 2016

Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte

Op 18 maart 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Programming of Metabolic Syndrome by Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy" met aanvraagnummer AVD105002016485. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 6 april 2016 en 18 april 2016, hebben wij aanvullend advies aan de DEC gevraagd.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). De algemene voorwaarde betreffende artikel 10, lid 1a van de wet wordt gesteld bij vergunningen met een langere looptijd. Dit om te voldoen aan datgene wat volgt uit dit artikel. U kunt met uw project "Programming of Metabolic Syndrome by Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy" starten. De vergunning wordt afgegeven van 26 april 2016 tot en met 1 april 2021 hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. De startdatum wijkt af van uw aanvraag omdat deze in het verleden ligt.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-RuG gevoegd. Dit advies is opgesteld op 6 april 2016. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet. Wij hebben de DEC om aanvullende informatie gevraagd. Op 6 april 2016 heeft de DEC gereageerd op onze vragen. De DEC heeft een herzien advies ingestuurd waarbij de aanvullende voorwaarde is vervallen. Op 18 april 2016 heeft de DEC op ons verzoek de correspondentie met de onderzoeker in meer detail weergegeven. Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Dit advies van de commissie, nemen wij over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Aangevuld met twee algemene voorwaarden. Het DEC-advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving 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 gegevens in de rechter kantlijn in deze brief.

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

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

Meer informatie

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

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: Rijksuniversiteit Groningen
Adres: A. Deusinglaan 1 [REDACTED]
Postcode en woonplaats: 9713 AV GRONINGEN
Deelnemersnummer: 10500

deze projectvergunning voor het tijdvak 26 april 2016 tot en met 1 april 2021, voor het project "Programming of Metabolic Syndrome by Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy" met aanvraagnummer AVD105002016485, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-RuG. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 18 maart 2016
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 18 maart 2016;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale indiening op 18 maart 2016;
 - c. Advies van Dierexperimentencommissie dd 6 April 2016, ontvangen op 6 april 2016;
 - d. De aanvullingen op uw aanvraag, (aanvullend DEC advies) ontvangen op 18 April 2016.

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Unraveling the mechanisms of MetS development in ICP offspring	Muizen (Mus musculus)	2394	36% Terminaal 12% Matig 52% Licht	[REDACTED]

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 van de Wet zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen. De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat eventuele go/no go momenten worden afgestemd met de IvD.

In artikel 10, lid 1a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

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

26 april 2016

Onze referentieAanvraagnummer
AVD105002016485

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.