



Aanvraagnummer AVD-104002015109

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 10400	<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 Wageningen University	
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	
		KvK-nummer	9215846
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	Akkermaalsbos 12
		Postbus	59
		Postcode en plaats	6700AW Wageningen
		IBAN	NL10 RABO 0397066465
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Wageningen UR
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	
		Afdeling	
		Telefoonnummer	
		E-mailadres	@wur.nl
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	
		Afdeling	
		Telefoonnummer	
		E-mailadres	@wur.nl

- 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 | 1 - 6 - 2015
- Einddatum | 1 - 6 - 2020
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- metabolic health: from integrated test model to identification of health improvement by compounds and nutrients
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Metabole gezondheid: van geïntegreerd testmodel tot identificatie van gezondheidsbevorderende (voedings-)stoffen
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC | DEC-WU
- Postadres | Postbus 9191, 6700 HB Wageningen
- E-mailadres | ██████████@wur.nl

4 Betaalgegevens

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

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel + beschrijving dierproeven
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- ~~rekeningverklaring~~ Bestelorder
- advies DEC-WU

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 1.7). 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	[REDACTED]
Functie	gemandateerd vergunninghouder
Plaats	Wageningen
Datum	6 - 5 - 2015
Handtekening	[REDACTED]



2

Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Wageningen University

Postbus 59
6700 AW Wageningen

**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD104002015109

Uw referentie

Bijlagen

Datum 08-06-2015

Betreft Leges Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 07 mei 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project 'Metabolic health: from integrated test model to identification of health improvement by compounds and nutrients' met aanvraagnummer AVD104002015109. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Leges

De leges die u verschuldigd bent zijn nog niet door ons ontvangen of de betaling is nog niet verwerkt.

Wanneer een beslissing

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

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post



Melding

Bijlagen via de post

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

1 Uw gegevens

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

2 Bijlagen

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

3 Ondertekening

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



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Wageningen University

Postbus 59
6700 AW Wageningen

Centrale Commissie Dierproeven

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl

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

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD104002015109

Uw referentie
uw ref

Bijlagen
1

Datum 10 Juni 2015
Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte

Op 07 mei 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project 'Metabolic health: from integrated test model to identification of health improvement by compounds and nutrients' met aanvraagnummer AVD104002015109. 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), conform de aangevraagde periode van 10 juni 2015 tot en met 01 juni 2020. Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. U kunt met uw project 'Metabolic health: from integrated test model to identification of health improvement by compounds and nutrients' starten.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de dierexperimentencommissie DEC-WU gevoegd. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a lid 3 van de wet. Wij kunnen ons om onderstaande redenen niet volledig vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Om de haalbaarheid van fase twee te kunnen beoordelen is aanvullende informatie nodig over de wijze waarop de doseringen van de te testen (voedings)stoffen bepaald gaan worden. Daarnaast is de CCD van mening dat u nog dient vast te stellen hoe gehandeld gaat worden indien dieren onverwacht negatieve bijwerkingen ontwikkelen na toediening van de te testen (voedings)stoffen. Om deze redenen hebben wij extra voorwaarden verbonden aan deze vergunning.

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.

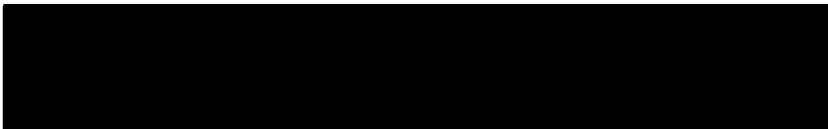
Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

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,

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



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.	10400				
1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.					
1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table><thead><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr></thead><tbody><tr><td>3.4.4.1</td><td>metabolic health mouse</td></tr></tbody></table>	Volgnummer	Type dierproef	3.4.4.1	metabolic health mouse
Volgnummer	Type dierproef				
3.4.4.1	metabolic health mouse				

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.

Within this experiment two phases are discriminated. In phase 1, a positive control compound will be tested to validate the integrative in vivo test model. In phase 2, compound and nutrients will be studied to assess their modulatory effect on metabolic health using the model validated in phase 1. In phase 1, adult mice will receive a high-fat diet for 15 weeks, since this has shown to induce significant weight gain and accompanied impaired metabolic health (Hoevenaars et al., Exp Phys., 2013). After acclimatisation, animals will be weighed and stratified based on their body weight. During the fattening period (15 weeks after acclimatisation) animals will be weighed weekly to follow their gain in body weight to minimize variation among groups. During the intervention period (the 18 days after the fattening period), animals will receive a positive control compound or control placebo via oral gavage to validate the

integrative test method. After a short period (between days 2-7) and a longer period (between days 12-18) after the start of the intervention whole body energy expenditure, metabolic flexibility, and total activity will be determined using the indirect calorimetry system (performed 2x, duration 4-5 days per run). An oral glucose tolerance test will be performed on 5hr-fasted mice in the second week after the start of this intervention (once between day 8 and 12). Blood will be sampled (3x 20 µl in 30 minutes) to measure glucose and insulin. Body weight and body composition will be measured before the start of the intervention and before and after the indirect calorimetry measurements using Echo-MRI. At the end of the experiment blood and tissues will be harvested, snap frozen and stored at -80°C.

In phase 2, multiple compounds and nutrients will be tested using the same set-up as described above with only minor adaptations for evaluation of nutrient-induced effects. For both compounds and nutrients always a control (no compound/nutrient) as well as a low and a high dose will be included. Nutrients will be provided directly after acclimatisation (i.e. also during the 15 weeks fattening period) and will be included in the diet (or no addition in case of control). A second adaptation is that whole body energy expenditure and metabolic flexibility will be measured only once (at the end of the study).

Inclusion of multiple doses contributes to added value for data interpretation and ultimate predictions for optimal metabolic health improvements induced by the compound/nutrient. The exact non-toxic dose given to the Low and High group will be determined per compound/nutrient during the project based on available prescreening data (in vitro) and/or published data. We aim to study beneficial effects of compound/nutrient interventions, therefore the dose will not cause any additional severity. It is common to select two doses with a dose ratio of factor 5-10. In all situations, dose selection will be discussed with the IvD.

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.

After arrival, the mice will receive a standard diet for 2 weeks to acclimate to their new environment. Next, the animals will receive a high-fat diet for 15 weeks. On this diet the animals will become obese and will develop a metabolic profile that links to metabolic disease. This approach will provide a relevant diet-induced model with a health condition that is susceptible for health improvements induced by compounds or nutrients that are subject of this proposal. After this run-in period the short test period will start (the actual experiment). The short duration of the integrative test phase (primarily using non-invasive methods) is the key of this experiment. It reduces the amount of compound/nutrient needed and benefits animal welfare (i.e. principally non-invasive measurements are used and the period with maximal discomfort (moderate) is as short as possible with maximal effectiveness in terms of effect). We discriminate two types of set-up in this animal experiment, namely a set-up for compounds and for nutrients. For compound studies, animals will first be fattened for 15 weeks, after which the animals will receive the intervention (carrier or carrier + compound) for 18 days. The compound will be provided daily via oral gavage at the start of the dark period (when the mice become active). This resembles most closely the expected ultimate exposure of the compounds, which is oral bolus use. For nutrient studies, animals will receive the nutrient in their diet, which resembles the ultimate exposure of the nutrients. This diet (+ nutrient) will be provided directly after acclimatisation for 15 weeks. This duration is based on established effects on metabolic condition.

For both set-ups, body weight and body composition (using echo-MRI) will be measured and will be used for stratification of the mice into experimental groups (n=12/group). One group will be sacrificed just before the start of the intervention. This group will serve as basal group. Whole body energy expenditure, metabolic flexibility, and total activity will be determined using the indirect calorimetry system. These measures using the indirect calorimetry system are the primary measures of this proposal. The mice will remain in their home cage with bedding for this assessment, which lasts 5 days. For the metabolic flexibility assessment, the mice will be fasted during inactive light phase and re-fed during the following active darkphase. The metabolic response to refeeding will be assessed. We have shown that fasting-refeeding response is a sensitive measure to assess metabolic flexibility [DEC 2012088, Horokova et al., PloSOne ,2012]. As we are able to measure 12 mice at the same time in the indirect calorimetry system, we will adjust the experimental logistics accordingly. For compound studies, the whole body energy expenditure and metabolic flexibility will be determined twice (duration: first time 5 days, second time 4 days). Measurements in the first week will give insight into immediate responses of the compound intervention, while measurements in the third week

are essential to show later responses. For nutrient studies, responses are mostly expected in the later stage, and therefore we will measure whole body energy expenditure and metabolic flexibility only once at the end of the study.

Between day 8-12, an oral glucose tolerance test will be performed once on 5hr-fasted mice. Blood will be sampled (3x 20 µl in 30 minutes) to measure glucose and insulin. These are essential measures in the evaluation of metabolic state. When the set-up is validated, in a later stage, we aim to omit the oral glucose tolerance test and insulin measurement whenever scientifically acceptable (so that only non-invasive measures remain). To measure the animal response to the indirect calorimetry measurements we will assess body weight and body composition before and after this measurement. At the end of the experiment (compounds: 15 weeks fattening+18 days compound; nutrients: 15 weeks) blood and tissues will be harvested, snap frozen and stored at -80°C, which will be used for detailed molecular studies.

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

Regarding the number of animals per group, we will use as few as possible, but as many as needed. Power calculation on our previous data shows that 12 mice per group are needed to obtain sufficient power to assess fasting-refeeding metabolic flexibility differences (measured using indirect calorimetry) induced by a nutritional intervention. Importantly, one of our aims is based on obtaining linked and paired data (phase 1) in one integrative in vivo model. This approach contributes to sufficient power of our test model, and is therefore expected to sensitively detect effects in subsequent phase 2 studies. Since sex differences have shown to significantly affect whole body metabolism and physiology, and therefore also the response to intervention strategies (van Helden et al, Cell Mol Life Sci 2011) we will only include mice of one sex/group in our studies. This reduces the variation in our data and thus prevents the need of using additional animals. In phase 1 we aim to validate the sensitivity of our approach for studying metabolic health. The sensitivity of our approach is sex independent. In phase 1, we will use compound 29 with proven effect on metabolic health in males. Therefore only males will be used phase 1. In phase 2, modulatory effects of compounds/nutrients will be studied. As explained, this can differ between sexes. For that reason it is essential to test effects of compounds and nutrients on both sexes.

Regarding the number of groups needed, we aim to reduce the number of groups as much as possible. For this, we decided to include only one reference group, namely animals without compound/nutrient, but with placebo intervention. These animals are on a high-fat diet similar as the intervention groups. On purpose we will not include a healthy reference group (animals on a low-fat diet) as second reference group, since this extra comparison option will not benefit answering the specific aim of our study. Moreover, if possible, we will combine testing compounds/nutrients so that reference groups can be shared. Together, using this approach we will limit the number of groups in this experiment as much as possible, thus limiting the number of animals needed.

B. De dieren

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

In our proposal we discriminate the following groups:

Basal group: animals are sacrificed as intervention starts (compounds: after fattening; nutrients: after acclimatisation). These animals are essential for basal values that are essential to proof that our approach (in which the animals receive a high-fat diet) lead to development of the metabolic syndrome. Moreover, this group is needed to proof whether the intervention leads to the hypothesized improved metabolic health or that the control group developed a lowered health state.

Control group: animals that receive 0 mg/kg of compound/nutrient (negative control) and run parallel to our intervention groups (Low and High groups). These animals are essential to determine compound/nutrient-mediated effect on studied parameters.

Low group: Animals that receive the low effective concentration of the selected compound/nutrient.

High group: Animals that receive the high effective concentration of the selected compound/nutrient.

For Control/Low/High groups: Section is at the end of the compound/nutrient intervention period, and all measures will be identical in Control/Low/High groups.

Adult C57BL/6J mice will be used (4-5 weeks old at arrival) which will be ordered from ████████, a registered animal breeding and delivery laboratory in the Netherlands. We have selected this strain because these mice are sensitive to diet-induced weight gain and insulin resistance when exposed to a western high-fat diet (van Schothorst et al. Obesity 2005, van Schothorst et al. FASEB J 2009). Furthermore, the data of this experiment can be compared to available in-house data of our lab, as these data is also from the C57BL/6J strain.

Our critical parameter is metabolic flexibility (measured using indirect calorimetry), which will be measured in the Control, Low and High group. The exact values used for the calculation below are based on data derived from a study in which biological significance of the intervention was demonstrated, therefore the values used in the power calculations have a solid biological value. . The calculation showed that in studies in which effects of dietary interventions on metabolic flexibility at least 12 animals per group are needed to obtain sufficient power (tested one-sided). This was calculated with Java Applet for Power and Sample Size, Lenth R.V., (<http://homepage.stat.uiowa.edu/~rlenth/power>) using SD1 (SD control group)=252 ml O2/6h, SD2 (SD intervention group)=350 ml O2/6h, True difference of means = 367 ml O2/6h power=0.8.

We also checked for effects on blood glucose levels in that study (to be measured in Control, Low, and High groups; SD1=0.90 mg/dL, SD2=1.2 mg/dL, True difference of means=1.2 mg/dL, Power=0.8) for which 13 animals are needed according to the calculation. However, another in-house I data set showed that using 12 animals statistical differences with p-value<0.01 were detected. If we take this latter finding along in our evaluation on optimal animal number per group, we believe that, if the intervention affects blood glucose levels, also with n=12 (instead of the calculated n=13) this can be demonstrated.

Since we also will perform molecular analyses (to be measured in all groups (Basal, Control, Low, High)), including gene expression profiling, we checked the number of animals that are needed for such analyses. Multiple studies (van Schothorst et al., FASEB J, 2009 en Keijer et al., MNFR, 2010) have shown that for identification of differences the use of 12 animals are optimal. In the publication of Keijer et al., we describe detailed calculations on basis of group sizes and identification of significantly regulated genes (1000 times random selection of animals (different group sizes) using a data set of 12 animals). The key conclusion of this calculation was that the accepted minimum group size for identification of significant differences on gene expression level is 12 animals/group.

In conclusion, we found that 12 animals per group are essential in the present study in all groups in order to draw reliable conclusions from our data.

Within this animal experiment we plan to validate our integrated design and if successful to evaluate 10 compounds/nutrients for their modulatory effects on metabolic health. With a minimum of n=12 per group and 3 concentrations (0 (control), low, high) per compound/nutrient + basal group, we will maximally need 1056 animals (phase 1: 96 animals (2 compounds (positive control and back-up strategy) at 2 concentrations of n=12; 2x12=24 + control group of n=12 + basal group of n=12) and phase 2: 960 animals (per sexe:10 compounds/nutrients of 2 concentrations of n=12; 10x2x12=240), + 10x control group of n=12 + 10 x basal group/experiment n=12).

For phase 1 (model validation), only males will be used. For phase 2 (effects of compounds/nutrients), both males and females will be used (in separate groups).

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

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

Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

In this proposed study, we aim to evaluate improvement of metabolic health, which is predominantly of interest for human metabolic health. Also, we aim to unravel molecular modulation of compound- and nutrient-induced improvement of metabolic health. For this, analyses in various tissues (including multiple skeletal muscle tissues, liver tissue) are essential. Since sampling of these tissues is not possible in humans (for instance using biopsies), we will use animals in this study. As mice and humans are 99% genetically similar (Gunthar and Dhand, Nature 2002), including most genes associated with disease, mice are widely accepted to be used as experimental model to study human disease. The C57BL/6J mice are recognized to have an eating behaviour similar to humans, i.e. overeating on high-fat diet. Therefore, these animals are a good model for research on studies that aim to investigate metabolic health improvement.

Because we aim to investigate the effects of compound or nutrient intervention on whole body metabolism and no alternative for such complex integrative processes and organ-organ interactions are available, it is not possible to use an in vitro system.

Based on statistical calculations and phased execution of this animal experiment, animal use will be reduced as much as possible. Moreover, shared use of data from basal and control groups via combination of phase 2 compound/nutrient studies will further reduce the number of experimental animals. Such combination allows the use of only one basal group and one control group per experimental period, which substantially reduce the number of animals. We aim to combine 2-3 compound/nutrient experiments per studies (6 experiments in phase 2 within this proposal), which may reduce the number of animals by 144 animals (from 1056 to 912).

Our high expertise on studies in mice ensures that we are competent in designing animal studies that require the least amount of animals with the least amount of severity. As such, we have chosen mostly non-invasive but sensitive measures to answer our research questions. The methods Echo-MRI and indirect calorimetry are both non-invasive and provide a wealth of data on respectively body composition and whole body energy metabolism. Because these measurements are non-invasive we are able to perform these measurements at several time points within the same animal throughout the study. This limits variation and subsequently increases the power to detect significant differences between our experimental groups because of paired data, leading to reduction of animal numbers.

In order to study beneficial effects of compound/nutrient intervention and subsequent analyses for optimal dose selection for metabolic health improvement multiple doses are essential (Slob et al., 2002). Via careful dosing selection based on state-of-the-art data (in house pre-screening data and/or scientific publications) we expect that using only two doses per compound/nutrient (i.e. low and high dose; factor 5-10 difference) is suitable. The use of only two dose groups contributes to an important reduction of the animal number in the present study.

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.

We have selected sensitive mostly non-invasive measurements that will not cause pain to the animals. Importantly, we analyse beneficial health effects by compounds/nutrients, no toxicological effects. Moreover, in our indirect calorimetry system the animals will remain in their own homecage which minimizes stress. Animals will be checked daily by an experienced person to assess their health condition. Based on our animal experimental set-up we do not expect any extreme discomfort (maximal severity is moderate). In any unexpected situation that an animal suffers it will be sacrificed. Humane endpoints will be determined in individual protocols in consultation with the IvD.

Environment: No substantial negative effects for the environment are expected.

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.

- A literature search in Pubmed (search term: "Metabolic Diseases"[Mesh] AND "Mice"[Mesh] AND "Metabolism"[Mesh] combined with 'indirect calorimetry', intervention, nutrient, or health improvement) did not reveal publications that investigated the use of an integrative protocol to assess improvement of metabolic health.

Discussions within our international network and at conference meetings provide additional support that our proposed research has not been performed earlier.

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.

- Mice will be group-housed (according to EU regulation) as long as this will not interfere with the study set-up. Mice will be individually housed as soon as the interventions starts (Compounds: group housing during acclimatisation and 15 weeks fattening, individual housing during 18 days intervention. Nutrients: group housing during acclimatisation, individual housing during 15 weeks fattening + intervention), because it is essential to monitor individual food intake during the experiment, which is not possible if animals are grouped-housed. The mice will get cage enrichment and bedding throughout the study and at libitum food and water (except for short fastening during indirect calorimetry).

Animals will be fasted at day 4 of the indirect calorimetry measurement to ensure similar start values of energy metabolism of the animals. However, this fasting will be performed during the inactive phase of the animals (light phase) when mice normally do not eat. Therefore this adaptation is not expected to intervene with animal well-being.

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.

The only action that may cause pain is the oral glucose tolerance test. Use of anaesthesia affects blood glucose homeostasis and levels, which is one of the key parameters in this study.

Ja

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Summary of discomfort: During this proposed study the following discomfort is expected: individual housing, oral gavage, weighing, Echo-MRI, indirect calorimetry, fasting, oral glucose tolerance test (3x 20 µl in 30 minutes).

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Discomfort is caused by experimental approach as described in A. No additional discomfort expected.

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

We aim to minimize the discomfort as much as possible by the following actions: animals will arrive at a young age (4-5 weeks) since this is expected to prevent fighting after stratification, and thus will allow group housing during the fattening period in compound-based studies. Animals can stay in their homecage during the indirect calorimetry measurement, which will prevent stress. Animals will be fasted during daytime (light period), during this time span mice normally don't eat, which minimizes potential discomfort. We will combine measures as much as possible, to prevent that animals are disturbed more than needed. For example, at days when weighing and Echo-MRI is scheduled we will do this in one run.

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.

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

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.

The discomfort of the individual assessments is classified as follows:

Individual housing (compounds: during intervention period (18 days); nutrients: during combined fattening + intervention period (15 weeks): moderate

Oral gavage (only by compound studies, daily during a period of 18 days): minor

Weighing: minor

Echo-MRI: minor

Indirect calorimetry in home cage: minor

Fasting: minor

Oral glucose tolerance test (OGTT)(20 µl, 3x in 30 minutes): minor

We do not expect additional discomfort from the dietary intervention. Our experimental high-fat diet reflects both the human energy% and saturated versus unsaturated fatty acid composition. Also, when we evaluate effects of compounds or nutrients these are selected because of their suggested beneficial effects on metabolic health.

During the acclimatisation period there is no handling that causes severity to the mice. During the fattening period the cumulative severity is minor when compound-effects are studied and moderate when nutrient-effects are studied (because of individual housing). During the intervention period the cumulative severity is moderate (both compound and nutrient studies). Collectively, the cumulative severity of the interventions is considered moderate.

OF NOTE: Animals in the basal groups will be sacrificed before the start of the intervention. These animals will only experience severity from determination of body weight and body composition. The total severity of basal groups is therefore minor.

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.

To evaluate intervention-induced regulation of molecular processes on tissue level, tissues need to be dissected after the intervention. These tissues will be used for detailed molecular analyses, such as gene and protein expression profiling and mitochondrial activity measurements.

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 Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- 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.
-

More than half of the Dutch population in the age group 30-70 years is too heavy (BMI over 25), and 13% is obese (BMI over 30). Obesity is a known risk factor for the metabolic syndrome, which is defined as central obesity plus 2 of the following factors: hypertension, low HDL-cholesterol, elevated glucose level and/or elevated triglyceride level. In the Netherlands, according to this definition, 34% of men and 24% of women suffer from the metabolic syndrome (Blokstra et al., 2012). Worldwide the prevalence of metabolic syndrome varies greatly mostly depending on socio-demographics with percentages ranging from 10-50%. People diagnosed as metabolic syndrome patients have an increased the risk of developing more severe disease like type 2 diabetes and cardiovascular diseases.

Exercise or caloric restriction would be a good approach to improve metabolic health. Unfortunately, this approach appears to be mostly unsuccessful on the long-term as relapse rates are high. This is evidenced by the increasing prevalence of people that suffer from obesity, metabolic syndrome, type 2 diabetes and cardiovascular diseases. As a consequence more people undergo bariatric surgery as an ultimate rescue, with 175.000 surgeries in 2013 in the US alone. Even after such intense surgery, the relapse is high, about one third experience a relapse within 5 years of initial remission (Arterburn, Obes Surg, 2013). Fundamental research has identified several proteins that function as central hubs in the regulation of energy metabolism. These findings make such proteins attractive therapeutic targets in the treatment of the metabolic syndrome and metabolic diseases like type 2 diabetes. Importantly, for some of these targets it has indeed been shown that these can be modulated by compounds or nutrients (compounds are defined as chemical substances, and nutrients are defined as substances present in our diet). However, in most cases effects on metabolic health have not yet been proven, but claims are predominantly based on theory or in vitro studies. In our ongoing research, we regularly identify compounds or nutrients that are able to modulate such targets (leads), and thereby are hypothesized to prevent metabolic-health decline.

Testing of compounds or nutrients that target metabolic syndrome and metabolic diseases is done in distinct steps. An essential step in this cascade is an in vivo assessment in a model organism to show effectiveness in targeting a disease. Standard measures in this type of studies include determination of adiposity, insulin sensitivity, and metabolic rate. Also the use of indirect calorimetry is a proven accurate method to investigate energy expenditure. More recently, we have shown added value of testing metabolic flexibility, induced by a fasting-refeeding challenge, using the indirect calorimetry system, as sensitive measure for metabolic health (Duivenvoorde et al., 2015). So far, however, no protocol has been described that successfully and sensitively measures these above-mentioned parameters in one integrative (metabolic flexibility using indirect calorimetry, oral glucose tolerance test, body composition using MRI, molecular responses on tissue level) and short assessment. In applied research, there is a need for a sensitive model that can be used to study the hypothesized beneficial effects of compounds and nutrients. Moreover, such studies will contribute to fundamental knowledge about detailed mode of action and molecular regulation of physiological processes. The combination of both applied and fundamental aims of this research will benefit the project via the following loop: improved fundamental insight might improve identification of new targets and leads for further applied research, which will lead to more fundamental and applied knowledge.

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?

AIM

The key aim of this research is: to study the effectiveness of lead compounds/nutrients in targeting metabolic diseases, using a validated integrative physiological relevant in vivo model.

The present proposal consists of two phases, which are both primarily in the field of applied knowledge. Each phase aims to answer a specific research question.

Phase 1:

- Is our proposed integrative in vivo model successful in sensitive identification of the selected positive control that is known to target metabolic diseases? (applied)

Phase 2:

- Can selected compounds/nutrients positively modulate metabolic health as measured using our new-developed integrative in vivo model? (applied)
- Which molecular processes that relate to metabolic health are modulated by selected compounds/nutrients? (fundamental)

FEASIBILITY

The expertise required for this research (indirect calorimetry, oral glucose tolerance test, body composition (Echo-MRI); details in appendix) is state-of-the-art, operational and available at our facility. The present proposal will benefit from our significant experience in performing in vivo experimentation, which has resulted in a proven well-structured coordination of studies with laboratory animals.

The present proposal consists of two phases. In the first phase, we will validate our integrative in vivo model that is designed to identify compounds that target metabolic diseases. For this, we selected a positive compound (compound 29 (Johnson & Johnson Pharmaceutical research and Development)) that is known to positively modulate metabolic health. Compound 29 was identified as selectively activating ligand for ERR α in in vitro studies. ERR α is a transcription factor that regulates expression of almost half of all mitochondrial-encoded proteins, controls mitochondrial biogenesis and controls oxidative metabolism. Its activation would be beneficial since mitochondrial function is impaired in metabolic syndrome (i.e. lowered mitochondrial content and defective oxidative metabolism). Indeed, in vivo studies showed that oral administration of compound 29 improved the metabolic response on both a physiological level (via improved glucose handling, normalization of insulin and triglyceride levels, and prevention of high-fat-diet-induced weight gain), as well as on molecular level (by altered expression of ERR α -targets, including altered gene expression profiles of fatty acid metabolism and mitochondrial functioning in liver tissue) (Patch et al., J. Med. Chem. 2011). These positive effects of compound 29 via specific activation of ERR α , a known target in metabolic health, makes compound 29 a suitable positive control in the present study.

In the second phase, we will test lead compounds/nutrients in our integrative model to study its modulatory effects on metabolic health. Lead selection will be as follows: compounds will be selected based on detailed knowledge from pre-screening studies (including structural, computational, pharmacokinetic studies), nutrients will be selected based on scientific support for target activation at relevant doses.

3.3 Belang

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

The scientific value of this proposed research is that detailed fundamental insight will be obtained by studying compound/nutrient-induced molecular regulation of metabolic-related processes. We will characterize these molecular effects in multiple target tissues including liver and muscle tissues in order to improve our understanding of mechanistic regulation of compound/nutrient-induced improvement of metabolic health. Also, an integrated in vivo test system, which we aim to validate in phase 1, increases the quality of information from our proposed as well as future studies, because paired data of multiple endpoint measures can be obtained. Next, confirmation of our hypothesis that the selected compounds or nutrients can modulate metabolic processes at the molecular level and thereby target metabolic disease (phase 2) is essential for further lead optimization, toxicity evaluation, and preclinical evaluation. The social relevance of this proposal is that our proposed integrative testing strategy (phase 1) aims to shorten the duration of the animal experiment, while at the same time it will increase the number of measures (paired data), which is a significant improvement from an ethical point of view. The subsequent phases, in which the modulatory effect of compounds/nutrients on metabolic health will be evaluated, contribute to identification of compounds/nutrients that target metabolic health. These compounds/nutrients can ultimately be used in the treatment or prevention of metabolic diseases.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

In order to answer the main aim of the present proposal, we will first (phase 1) evaluate if our proposed integrative in vivo model is successful in sensitive identification of beneficial health effects as induced by the positive compound. Based on the outcome of phase 1 a go/no go evaluation is planned. If the model tested in phase 1 provides valid and sensitive outcomes, we will continue with phase 2 (go).

In any unexpected situation that our positive control does not show improvement of metabolic health in phase 1, we will follow the following strategy: if the positive compound was not successful for a plausible reason, we will repeat phase 1 with another positive compound. If this positive compound is also not successful in modulating metabolic health measures, we will not continue to phase 2 (no go).

In phase 2, we will use the integrative model to study modulation of compounds/nutrients on metabolic health. In general, this involves two doses of the test substance (Low and High group). The exact (non-toxic) doses of the Low and High group will be determined during the project based on available prescreening data (in vitro) and/or published data. We aim to study beneficial effects of compound/nutrient interventions, therefore the dose will not cause any additional severity. It is common to select two doses with a dose ratio of factor 5-10. In all situations, dose selection will be discussed with the IVD.

In all studies, we will include a basal group (sacrificed before intervention), and a control group. The control group consists of animals that receive no compound/nutrient and run parallel to our intervention groups (Low and High groups). These animals are essential to determine compound/nutrient-mediated effects on studied parameters.

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

Within this proposal two phases are discriminated that both aim to study metabolic health. Phase 1 comprises metabolic health model development, in phase 2 we focus on modulation of metabolic health by compounds/nutrients using the model as developed in phase 1. Because these two phases both focus on evaluation of metabolic health, one type of animal experiment will be used.

The proposed study will be performed in a mice model of diet-induced obesity of which, besides non-invasive measures and blood sampling during the study, muscle, adipose, and liver tissues will be harvested at the end of the intervention. As mice and humans are 99% genetically similar (Ghunter and Dhand, Nature 2002), including most genes associated with disease, mice are widely accepted to be an experimental model to study human metabolic disease. In addition, C57BL/6J mice are recognized to have an eating behaviour similar to humans, i.e. overeating on a high-fat diet. The analysis in various tissues to study molecular regulation of metabolic health cannot be realized in humans (biopsies of liver, muscle etc. are not feasible).

We have selected the C57BL/6J strain because these mice are sensitive to weight gain and insulin resistance when exposed to a western high-fat diet (van Schothorst et al., Obesity 2005; Faseb J, 2009). Furthermore, the results of this experiment can be used for comparison to the other animal experiments carried out in our group as these also used the C57BL/6J strain.

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 experiments that we propose are closely linked since we will use the integrative in vivo model that we validate in phase 1 for testing the effects of compounds/nutrients in phase 2. Using the data obtained from our phase 1 experiment we will be able to answer our first research question whether our proposed integrative in vivo model is successful in sensitive identification beneficial health effects as induced by the positive compound. Before we will start the experiments of phase 2, a go/no go decision is incorporated. We will only continue the experiments of phase 2 if our conclusion of the phase 1 experiment is positive.

Multiple experiments will be performed in phase 2; these experiments have a similar set-up with the main difference being the compound/nutrient that is used for the intervention. For the first phase 2 experiments, we have selected 1 compound and 2 nutrients to study, which are both leads for modulation of metabolic health based on our available data. Based on our ongoing research we will select additional compounds/nutrients (max. 10 total) to test their modulation on metabolic health in our integrative in vivo model.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Metabolic health mouse
2	
3	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

Van: ZBO-CCD
Verzonden: maandag 15 juni 2015 17:11
Aan: [redacted]@wur.nl'
Onderwerp: Terugkoppeling aanvraag projectvergunning (AVD104002015109)

Geachte mevrouw [redacted]

Op 07 mei 2015 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project project 'Metabolic health: from integrated test model to identification of health improvement by compounds and nutrients' met aanvraagnummer AVD104002015109.

De CCD heeft besloten de vergunning, overeenkomstig uw advies, te verlenen. De aanvrager en verantwoordelijk onderzoeker zijn hierover ingelicht.

Langs deze weg willen wij u graag informeren over de door de CCD gestelde voorwaarden aan de projectvergunning. Er zijn geen aanvullende vragen aan de aanvrager gesteld.

De vergunning wordt verleend onder de volgende voorwaarden:

- 1) De aanvrager dient voor aanvang van fase 2 nader te specificeren op welke wijze de lage en hoge doseringen van de te testen (voedings)stoffen bepaald zullen worden en te beschrijven welke criteria zullen worden toegepast om deze doseringen vast te stellen. Deze informatie is noodzakelijk om de haalbaarheid van fase 2 van het project te kunnen beoordelen. Deze onderbouwing en specificatie dient ter goedkeuring aan de CCD te worden voorgelegd. De CCD zal op basis van de aanvullende informatie beoordelen of fase 2 van de dierproef al dan niet uitgevoerd mag worden. Het betreft hier een opschortende voorwaarde. De aanvrager mag pas met fase 2 starten zodra u van de CCD goedkeuring heeft gekregen.
- 2) De aanvrager dient voor aanvang van fase 2 van het project, in overleg met de IvD, vast te stellen hoe gehandeld gaat worden indien dieren onverwacht negatieve bijwerkingen ontwikkelen na toediening van de te testen (voedings)stoffen. Deze voorwaarde is toegevoegd om onnodig lijden van dieren te voorkomen.

Tot slot willen wij u graag bedanken voor uw heldere advies.

Mocht u vragen hebben over onze beslissing, dan kunt u uiteraard contact met ons opnemen.

Met vriendelijke groet,

[redacted]

Centrale Commissie Dierproeven www.zbo-ccd.nl

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

.....
 T: 0900 2800028
 E: ZBO-CCD@minez.nl



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan
Naam: Wageningen University
Adres: Postbus 59
Postcode en woonplaats: 6700 AW Wageningen
Deelnemersnummer: 10400

deze projectvergunning voor het tijdvak 10 juni 2015 tot en met 01 juni 2020, voor het project 'Metabolic health: from integrated test model to identification of health improvement by compounds and nutrients' met aanvraagnummer AVD104002015109, gebaseerd op het advies van Dierexperimentencommissie DEC-WU.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Assistant Professor.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 07 mei 2015
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 07 mei 2015;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale indiening op 07 mei 2015;
 - c. Advies van dierexperimentencommissie d.d. 04 mei 2015, zoals ontvangen bij digitale indiening op 07 mei 2015.

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst	Voorwaarden
Metabolic health mouse Fase 1	Muis -C57BL/6J	96/ 5 jaar	25% gering 75% matig	-n.v.t.
Fase 2	Muis -C57BL/6J	960/ 5 jaar	25% gering 75% matig	-Specificatie van de wijze van bepaling van de dosering van de (voedings)stoffen dient ter goedkeuring aan de CCD te worden voorgelegd. -Handelswijze bij onverwachte bijwerkingen dient i.o.m. de IvD te worden vastgesteld.

Extra voorwaarden:

1) De aanvrager dient voor aanvang van fase 2 nader te specificeren op welke wijze de lage en hoge doseringen van de te testen (voedings)stoffen bepaald zullen worden en te beschrijven welke criteria zullen worden toegepast om deze doseringen vast te stellen. Deze informatie is noodzakelijk om de haalbaarheid van fase 2 van het project te kunnen beoordelen. Deze onderbouwing en specificatie dient ter goedkeuring aan de CCD te worden voorgelegd. De CCD zal op basis van de aanvullende informatie beoordelen of fase 2 van de dierproef al dan niet uitgevoerd mag worden. Het betreft hier een opschortende voorwaarde. U mag pas met fase 2 starten zodra u van de CCD goedkeuring heeft gekregen.

2) De aanvrager dient voor aanvang van fase 2 van het project, in overleg met de IvD, vast te stellen hoe gehandeld gaat worden indien dieren onverwacht negatieve bijwerkingen ontwikkelen na toediening van de te testen (voedings)stoffen. Deze voorwaarde is toegevoegd om onnodig lijden van dieren te voorkomen.

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 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.

DEC-advies

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD-104002015109
2. Titel van het project: 'Metabole gezondheid: van geïntegreerd testmodel tot identificatie van gezondheidsbevorderende (voedings-)stoffen'.
3. Titel van de NTS: Metabole gezondheid: van geïntegreerd testmodel tot identificatie van gezondheidsbevorderende (voedings-)stoffen'.
4. Type aanvraag: nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:
 - Naam: DEC Wageningen Universiteit
 - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
 - mailadres contactpersoon: [REDACTED] [wur.nl](mailto:[REDACTED]@wur.nl)
6. Adviestraject:
 - ontvangen door DEC: 13-04-2015
 - aanvraag compleet: ja
 - in vergadering besproken: 20-04-2015
 - termijnonderbrekingen van 21-04-2015 tot 04-05-2015
 - aanpassing aanvraag: 04-05-2015
 - advies aan CCD: 04-05-2015
7. Eventueel horen van aanvrager: n.v.t.
8. Correspondentie met de aanvrager
 - Datum 21-04-2015
 - Strekking van de vragen:
 - Bij 3.1 (Achtergrond) en in de NTS een duidelijkere omschrijving van de definiëring/ afbakening van het probleem, de context ervan en de reikwijdte van het onderzoek, waarbij wordt ingegaan op de bijdrage die het onderzoek levert aan medicijnontwikkeling; Tevens ingaan op de plaats die het onderzoek inneemt in de totale keten van het probleem van obesitas en daaraan gerelateerde ziekten in relatie met andere behandelings- en interventiemogelijkheden (bijv. preventieve maatregelen).
 - Bij 3.4. (Onderzoeksstrategie) duidelijker uitleg over het werkingsmechanisme van de te onderzoeken stof;
 - In de bijlage bij A. (Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters) een toelichting op de keuze voor mannelijke/ vrouwelijke dieren;
 - Bij B. (De dieren) een uitgebreidere toelichting bij de statistische onder-

bouwing en argumentatie van de noodzaak van een van de proefgroepen;

- Redactionele/ tekstuele opmerkingen;

- Advies om de NTS laten bekijken door een communicatiedeskundige aangezien deze erg compact was geschreven, nog een aantal type- en taalfouten en jargon en vaag taalgebruik bevatte.

- Datum antwoord: 22-04-2015

- Strekking van het antwoord:

Op basis van bovenstaande vragen is de projectaanvraag door de aanvrager aangepast. In de huidige versie is voldoende tegemoet gekomen aan de vragen van de DEC.

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

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering: n.v.t.

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord.
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën zijn in overeenstemming met de hoofddoelstellingen.
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als reëel belang. Obesitas is een substantieel maatschappelijk probleem en metabool syndroom is een erkende ziekte, het onderzoek richt zich echter op een deel van een lange keten van handelingsmogelijkheden, nl. op het snel screenen van stoffen met gebruikmaking van een model, waar betrekkelijk weinig dieren voor nodig zijn. Hiermee wordt ingestoken op reparatie van obesitas-gerelateerde gezondheidsproblemen en niet op preventie van obesitas. Hoewel de DEC onderkent, dat preventie minstens zo belangrijk is, is zij van mening, dat reparatie een belangrijke bijdrage kan leveren aan de humane gezondheid. Derhalve oordeelt de DEC dat aan dit project een reëel belang moet worden toegekend.
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. De betrokken onderzoeksgroep heeft veel ervaring met de beschreven methodieken en onderzoeksvelden. Er worden ter validering van een testmodel stoffen gekozen, waarvan de werkzaamheid al is aangetoond. Na validering van dit testmodel zullen hiermee stoffen worden onderzocht op hun effect op metabole gezondheid, die worden geselecteerd op basis van gedetailleerde kennis uit prescreeningstudies of basis van wetenschappelijke aanwijzingen.

5. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De dieren gedurende een deel van het experiment anders dan conform bijlage III van de Richtlijn gehuisvest. Ze zullen individueel worden gehuisvest zodra de interventie begint (gedurende 18 dagen of 15 weken). De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd.
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. Met het oog op een beter mechanistisch inzicht in de werkzaamheid van (voedings)stoffen en het ontwikkelen van interventiestrategieën is een diermodel nodig. Om interventiegeïnduceerde regulering van moleculaire processen op weefselniveau te evalueren, moeten weefsels worden ontleed na de interventie. Deze weefsels worden gebruikt voor een gedetailleerde moleculaire analyse, zoals gen- en eiwitexpressieprofielen en mitochondriale activiteit. Dit kan niet in de mens worden gerealiseerd (biopoten van lever, spieren enz. zijn niet haalbaar).
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat. De gekozen aantallen zijn minimaal nodig om de benodigde analyses te kunnen uitvoeren. Door fasering, statistische onderbouwing, het gebruik van één sekse en inteeltmuizen wordt het aantal dieren geminimaliseerd. In de loop van het project zal de IvD voorgenomen experimenten moeten beoordelen op de vraag, of er mogelijkheden zijn voor verdere vermindering door het combineren van te testen stoffen.
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en 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

De DEC is unaniem van mening dat het doel van het project het gebruik van de dieren en het ongerief dat deze proefdieren wordt aangedaan rechtvaardigt. Dit project kan enerzijds een bijdrage leveren aan het ontwikkelen van een gevoelige en nauwkeurige meetmethode voor het bestuderen van metabole gezondheid in muizen en aan het verkrijgen van inzicht in het werkingsmechanisme van (voedings-)stoffen. Anderzijds kan het een verkorte en verbeterde strategie opleveren voor het bestuderen van metabole gezondheidsverbetering door (voedings-)stoffen en aan de identificatie van (voedings-)stoffen die bijdragen aan verbeterde metabole gezondheid. Voor dit project zijn geen alternatieven beschikbaar. De uitvoering is niet in strijd met andere ethische overwegingen m.b.t. het gebruik van proefdieren.

E. Advies

Advies aan de CCD:

De DEC adviseert unaniem de vergunning te verlenen.



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan
Naam: Wageningen University
Adres: [REDACTED]
Postcode en woonplaats: [REDACTED]
Deelnemersnummer: 10400

deze projectvergunning voor het tijdvak 10 juni 2015 tot en met 01 juni 2020, voor het project 'Metabolic health: from integrated test model to identification of health improvement by compounds and nutrients' met aanvraagnummer AVD104002015109, gebaseerd op het advies van Dierexperimentencommissie DEC-WU.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Assistant Professor.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 07 mei 2015
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 07 mei 2015;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale indiening op 07 mei 2015;
 - c. Advies van dierexperimentencommissie d.d. 04 mei 2015, zoals ontvangen bij digitale indiening op 07 mei 2015.

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst	Voorwaarden
Metabolic health mouse Fase 1	Muis -C57BL/6J	96/ 5 jaar	25% gering 75% matig	-n.v.t.
Fase 2	Muis -C57BL/6J	960/ 5 jaar	25% gering 75% matig	-Specificatie van de wijze van bepaling van de dosering van de (voedings)stoffen dient ter goedkeuring aan de CCD te worden voorgelegd. -Handelswijze bij onverwachte bijwerkingen dient i.o.m. de IvD te worden vastgesteld.

Extra voorwaarden:

1) De aanvrager dient voor aanvang van fase 2 nader te specificeren op welke wijze de lage en hoge doseringen van de te testen (voedings)stoffen bepaald zullen worden en te beschrijven welke criteria zullen worden toegepast om deze doseringen vast te stellen. Deze informatie is noodzakelijk om de haalbaarheid van fase 2 van het project te kunnen beoordelen. Deze onderbouwing en specificatie dient ter goedkeuring aan de CCD te worden voorgelegd. De CCD zal op basis van de aanvullende informatie beoordelen of fase 2 van de dierproef al dan niet uitgevoerd mag worden. Het betreft hier een opschortende voorwaarde. U mag pas met fase 2 starten zodra u van de CCD goedkeuring heeft gekregen.

2) De aanvrager dient voor aanvang van fase 2 van het project, in overleg met de IvD, vast te stellen hoe gehandeld gaat worden indien dieren onverwacht negatieve bijwerkingen ontwikkelen na toediening van de te testen (voedings)stoffen. Deze voorwaarde is toegevoegd om onnodig lijden van dieren te voorkomen.

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 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.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Wageningen-Universiteit

Postbus 59

6708 WG WAGENINGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

www.zbo-ccd.nl

0900 28 000 28 (10 ct/min)

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD104002015109

Bijlagen

2

Datum 08-05-2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte heer/mevrouw

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 30 april 2015.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD104002015109. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

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

Factuur

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

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.zbo-ccd.nl. 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 plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: Postdoctoral researcher
Afdeling: [REDACTED]
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]@wur.nl

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 juni 2015
Geplande einddatum: 1 juni 2020
Titel project: metabolic health from intgrated test model to identification of health improvement by compounds and nutriens
Titel niet-technische samenvatting: Metabole gezondheid: van geïntegreerd testmodel tot identificatie van gezondheidsbevorderende (voedings-) stoffen
Naam DEC: DEC-WU
Postadres DEC: Postbus 9191, 6700 HB Wageningen
E-mailadres DEC: [REDACTED]@wur.nl


Betaalgegevens

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

Checklist bijlagen

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

Ondertekening

Naam: 
Functie: gemandateerd vergunninghouder
Plaats: Wageningen
Datum: 6 mei 2015



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Wageningen-Universiteit

Postbus 59

6708 WG WAGENINGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

www.zbo-ccd.nl

0900 28 000 28 (10 ct/min)

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD104002015109

Bijlagen

2

Datum 08-05-2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 8 mei 2015

Vervaldatum: 7 juni 2015

Factuurnummer: 201570109

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvegrunning dierproeven Betreft aanvraag AVD104002015109	€ 741,00

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