

	Inventaris Wob-verzoek W16-12S								
		wordt verstrekt			weigeringsgronden				
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	NTS2015359								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel				x		x	x	
3	Niet-technische samenvatting	x			x		x	x	
4	Bijlage beschrijving dierproeven 1				x		x	x	
5	Bijlage beschrijving dierproeven 2				x		x	x	
6	Bijlage beschrijving dierproeven 3				x		x	x	
7	Bijlage beschrijving dierproeven 4				x		x	x	
8	DEC-advies				x		x	x	
9	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
10	Verzoek aanvulling aanvraag				x		x	x	
11	Reactie verzoek aanvulling 1			x					
12	Reactie verzoek aanvulling 2				x		x	x	
13	Advies CCD		x						x
14	Beschikking en vergunning				x		x	x	
15	Mail beschikking 2-2-2016				x		x	x	
16	Mail terugkoppeling DEC 2-2-2016				x		x	x	

AVD 105002015 35g



Centrale Commissie Dierproeven

30 DEC 2015

Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

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

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in 10500 ☐ 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 1179037 Straat en huisnummer A. Deusinglaan 1 [Redacted] Postbus [Redacted] Postcode en plaats 9713 AV GRONINGEN IBAN NL45ABNA0474567206 Tenaamstelling van het rekeningnummer Rijksuniversiteit Groningen
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>	(Titel) Naam en voorletters [Redacted] ☒ Dhr. ☐ Mw. Functie [Redacted] Afdeling [Redacted] Telefoonnummer [Redacted] E-mailadres [Redacted]
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters [Redacted] ☐ Dhr. ☐ 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] ☐ Dhr. ☐ 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
Functie
Afdeling
Telefoonnummer
E-mailadres

☐ Dhr. ☐ Mw.

- 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 - 11 - 2015

Einddatum 1 - 11 - 2020

- 3.2 Wat is de titel van het project?

Comparative studies on the regulation of sleep and consequences of sleep loss

- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?

Vergelijkende studies aan de regulatie van slaap en gevolgen van slaaptekort

- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?

Naam DEC

Postadres

E-mailadres

A. Deusinglaan 1

secrdec.umcg@umcg.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
- ☒ Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- ☐ Melding Machtiging
- ☐

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

Functie

Plaats

GRONINGEN

Datum

27-12-2015

Handtekening

Section 1: Introduction

The purpose of this document is to provide a comprehensive overview of the project's objectives, scope, and timeline. The project aims to develop a new software application that will streamline the workflow of our department. The scope of the project includes the design, development, testing, and deployment of the application. The timeline for the project is estimated to be 12 weeks, starting from the beginning of the month and ending by the end of the month.

Section 2: Objectives

- 1. To identify the current workflow and its inefficiencies.
- 2. To design a new software application that addresses the identified inefficiencies.
- 3. To develop the software application using the latest technologies.
- 4. To test the software application thoroughly to ensure its reliability and security.
- 5. To deploy the software application and provide training to the users.

Section 3: Scope

- 1. The project will focus on the development of a new software application that will streamline the workflow of our department.
- 2. The project will not include the development of a new database system.
- 3. The project will not include the development of a new user interface.
- 4. The project will not include the development of a new reporting system.
- 5. The project will not include the development of a new security system.

Section 4: Timeline

Task	Start Date	End Date
Identify current workflow and inefficiencies	01/01/2023	01/15/2023
Design new software application	01/16/2023	02/15/2023
Develop software application	02/16/2023	04/15/2023
Test software application	04/16/2023	05/15/2023
Deploy software application	05/16/2023	06/15/2023



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.

Individuals of many species, including humans, spend a large part of their lives sleeping. It is widely accepted that sleep is homeostatically regulated and that a need for sleep builds up during wakefulness. Yet, despite many theories, the exact function of sleep remains an enigma. Moreover, sleep itself is a complex phenomenon consisting of two distinct stages, non-rapid-eye-movement (NREM) sleep or slow-wave sleep and rapid-eye-movement (REM) sleep or paradoxical sleep. Each of these two stages may have its own function in, e.g., neuronal recovery, maintenance and plasticity.

The basic characteristics of sleep regulation and the principle of sleep homeostasis have been studied in a variety of mammalian and non-mammalian species. Indeed, there is no doubt that much can be learned about the regulatory mechanisms and possible functions of sleep from comparative studies of different species. However, much of what is currently being discovered about sleep at the neurobiological and molecular levels is primarily based on experimentation in nocturnal laboratory rodents, particularly rats and mice. While rats and mice are comparable with respect to the most important aspects of sleep regulation and sleep homeostasis, they may not necessarily be comparable to all other animals. Although it is generally assumed that nocturnal rodents are a good model to learn about general principles of sleep regulation and sleep function, this assumption is hardly ever tested. Few other species are studied in much detail, perhaps because they are not easily available, are difficult to keep under laboratory conditions, or have other limitations in terms of molecular studies. In this project, we aim to study a number of specific non-rodent and/or non-mammalian species to address questions on the regulation and function of sleep and the consequences of sleep loss. These studies are important to, A) confirm findings achieved in rats and mice, thereby providing important supports for the generalizability of these findings; or B) shed new light on certain aspects of sleep regulation and sleep homeostasis that may indicate caution is required with extrapolation from studies in nocturnal rodents. The species that we have selected are one day-active mammalian species (tree shrew) and two bird species (European starling and jackdaw). The reasons for selecting these specific species are described hereafter.

The tree shrew, *Tupaia belangeri*, is a truly interesting and potentially important model for sleep and circadian research. This small omnivorous mammal originating from Southeast Asia is day-active and therefore more similar to humans than the commonly used laboratory species such as rats and mice. This may be particularly relevant in the context of sleep studies. Moreover, the tree shrew can be bred and maintained quite well in a laboratory setting and has proven to be a useful model species for experimental research (Fuchs and Corbach-Sohle, UFAW Handbook 2010). Importantly, in our first EEG study on the tree shrew, we assessed basic sleep-wake patterns and found that, while this species shares many of the basic characteristics of sleep with other mammals, it also has a number of unique sleep features that warrant further study (Coolen et al., Sleep 2012). The tree shrews had a very high amount of overall sleep (over two-thirds of the 24h day), including a substantial of day-time NREM sleep without ever entering REM sleep. Moreover, although the animals had a normal amount of night-time REM sleep, they did not show a clear REM sleep rebound after sleep deprivation, which provides fuel for the ongoing debate concerning the homeostic regulation of this particular sleep state (Franken, J Sleep Res 2002; Benington, J Sleep Res 2002).

In general, birds have many features of sleep in common with mammals, including the occurrence of NREM and REM sleep (Siegel, Trends in Neurosci 2008). Moreover, various studies in birds have shown sleep-dependent learning and memory processes, in particular in relation to song learning (Brawn et al., J Neurosci 2010; Shank and Margoliash, Nature 2009). This suggests that sleep plays an important role in supporting brain function and cognitive processes in

birds, very similar to what has been reported for mammals. Yet, at the same time, studies of sleep in birds may also lead to surprising findings and novel insights. For example, it was recently shown that pectoral sandpipers are able to maintain high behavioural performance despite a massive reduction in sleep time during a 3-week period of intense male-male competition for access to fertile females (Lesku et al., Science 2012). Moreover, males that slept the least ultimately produced the most offspring. These findings challenge the common view emerging from studies in mammals that decreased performance is an inescapable outcome of sleep loss and beg for follow-up studies under more controlled conditions. However, detailed EEG studies in birds are scarce and none of these properly assessed sleep homeostatic responses to sleep deprivation, that is, measurement of sleep rebounds and sleep architecture after sleep deprivations of different durations (acute and chronic). While in that sense any bird species would be a valuable addition, for this project we selected the European starling and the jackdaw as a model species for experiments that will bridge the gap between ecological and evolutionary studies on sleep in birds and laboratory studies on the neurobiological and molecular underpinnings of sleep performed in rodents.

One bird species that is a particular suitable candidate for sleep studies is the European starling. In Groningen, this species has already been used in experimental settings under both semi-natural conditions and laboratory conditions (e.g., Wiersma et al., J Exp Biol 2005). It has the appropriate size for EEG recordings with miniature data loggers and we recently successfully performed the first recordings of basic sleep-wake patterns and homeostatic response to acute sleep deprivation (██████ et al., in progress). We now aim to extend these first recordings with measurements of sleep under conditions of more chronic sleep restriction and assessments of molecular correlates of sleep loss in brain tissue.

The second bird species of interest is the jackdaw. Among birds, the cognitive abilities of Corvids (jackdaws, crows and ravens) appear to be the most complex, in some cases comparable to those found only in primates (Clayton and Emery, Neuron 2015). Given their ability to perform complex tasks, and associated large brains, Corvids could serve as a powerful model in which to examine the role sleep plays in avian brain function and cognition. An unconfirmed early study on Corvids reported very low amounts of REM sleep (Szymczak, Acto Neurobiol Exp 1989), which again makes it an interesting model to study REM sleep homeostasis. As a first step towards developing this model, we aim to characterize the sleep patterns in jackdaws. Depending on the outcome and success of this first study and subsequent grant applications, we foresee future experiments in the jackdaw that are more specifically aimed at sleep and cognition.

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?

In this project we will assess sleep, sleep homeostasis and consequences of sleep deprivation in 3 non-rodent and/or non-mammalian species (tree shrew, starling and jackdaw). These studies are important to, A) confirm findings achieved in rats and mice, thereby providing important supports for the generalizability of these findings; or B) shed new light on aspects of sleep regulation and sleep homeostasis that may be specific for certain species. Importantly, the finding of species-specific aspects of sleep would fuel the concern that caution is required with extrapolation of results from studies in nocturnal rodents to other species (including humans).

The main aims of this project are:

- 1) Assessment of sleep-wake behavior and sleep architecture in the tree shrew, the jackdaw and the European starling by means of polysomnography under

different environmental conditions (different light conditions, different ambient temperatures, different social housing conditions). Published data suggest that sleep is sensitive to environmental conditions, including light and temperature, but few systematic studies in species other than nocturnal rodents have been performed. In certain species, sleep-wake patterns may be partly shaped by the social environment as well. Particularly in birds, the occurrence of unihemispheric sleep, which does not occur in laboratory rats and mice, may in part depend on the position of individuals in a group (██████████ et al. Nature 1999).

2) Assessment of the homeostatic sleep response to sleep deprivation of different durations (i.e., the occurrence of a NREM and REM sleep rebounds). It is well established that humans, rats, and mice display a homeostatic response to sleep deprivation, that is, they catch up for lost sleep by showing a rebound sleep. This rebound is particularly clear for NREM sleep but less convincing (and perhaps species-dependent) for REM sleep. However, a careful and quantitative assessment of sleep homeostatic responses has been performed in few species other than the usual suspects (and none in birds). Moreover, most of the available data are concerned with acute sleep deprivation and little information exists on more chronically restricted sleep as it often occurs in the real world (e.g., in birds during the reproductive season when workload is high or in humans beings living in a modern 24/7 society). The jackdaw, starling and tree shrew are interesting models for a further phylogenetic analysis of the sleep homeostatic concept.

3) Assessment of the molecular correlates of sleep and sleep loss by collecting brain material after sleep deprivation or sleep restriction of different durations. This part of the project is directly driven by the hypothesis that sleep serves to support recovery and/or plasticity of the brain (i.e., nerve cells). Particularly, sleep is thought to be important for regulating synaptic strength. The popular synaptic homeostasis theory for sleep function postulates that synaptic strength increases in the course of wakefulness and that sleep serves to reverse this and bring the overall synaptic strength back to a baseline level. Accordingly, neuronal plasticity cascades that lead to synaptic strengthening are supposed to be activated during sleep deprivation and markers of synaptic strength such as glutamate receptor expression are expected to be increased. However, studies on the relationship between sleep, sleep deprivation and markers of synaptic strength and plasticity are largely restricted to mice and rats. We will extend our initial EEG studies in tree shrews and starling with assessment of molecular correlates of sleep and sleep loss by collecting brain tissue after different durations of sleep deprivation and/or subsequent recovery sleep. Based on the literature and on our own earlier work, brain tissue will be analyzed for, among others, elements of the cAMP-PKA-CREB signalling cascade and glutamate receptors.

Feasibility of the project:

We foresee no problems with the execution of this project. The selected species as well as all the required equipment for EEG recording and molecular analysis are available at our institute and the applicant has ample experience with these kind of studies (e.g., Coolen et al., Sleep 2012). The experiments are integrated in two ongoing PhD projects ██████████. Moreover, the studies are part of an ongoing collaboration with ██████████ within our own institute ██████████ and with ██████████ at the ██████████ ██████████

3.3 Belang

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

In addition to providing new knowledge on the biology of sleep in specific species (jackdaw, starling, tree shrew), these studies are of general importance

because they will provide important comparative data on the principle of sleep homeostasis and the consequences of sleep loss. These studies will be important in bridging the gap between ecological studies on sleep in non-rodent species and laboratory studies on the neurobiology of sleep performed in rats and mice. The findings in the proposed species may either, A) confirm findings achieved in rats and mice, thereby providing important supports for the generalizability of these findings; or B) not confirm findings in rats and mice, thereby warning against unfounded extrapolation from studies in nocturnal rodents and shed new light on certain aspects of sleep regulation and sleep homeostasis.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

The experiments in the different species can run largely independently from each other and are integrated in 2 PhD projects. Experiments in the tree shrew are a follow up from earlier studies and will be executed by the applicant and one PhD student [REDACTED]. These experiments will start soon upon approval of this application. Experiments in the two bird species are part of a second PhD project [REDACTED]. This part of the project will first continue with the starling and follows up the first recordings that were already performed in this species [REDACTED] (in progress). Experiments in the jackdaw will be performed in the second stage of the project.

Within each species the experiments will follow the same order as the numbered aims described in section 3.2. One, sleep-wake behavior and sleep architecture will be assessed by means of polysomnography under different environmental conditions (particularly, different light conditions, different ambient temperatures, and, in the starling, different social housing conditions). Two, animals will be subjected to sleep deprivation of different durations to assess the homeostatic sleep responses, that is, the magnitude and architecture of the rebound sleep during the recovery phase. Three, animals will be sacrificed after different durations of sleep deprivation and brain tissue will be collected to determine the neurobiological and molecular consequences of sleep loss. With this order, animals used for aims 1 and 2 can in some cases be re-used for experiments under aim 3.

In more detail for each of the 3 species:

In the tree shrew, we already performed and published the first study that assessed basic sleep-wake patterns and homeostatic recovery responses to short sleep deprivation (Coolen et al., Sleep 2012). In response to acute 6 or 12h sleep deprivation, tree shrews displayed an expected but modest NREM sleep rebound but no rebound of REM sleep whatsoever. Under main aim 1, we will investigate the regulation of REM sleep in more detail by examining the effect of sleep under different environmental conditions, particularly different light conditions and ambient temperature conditions. This is of interest since studies in rodents suggest that REM sleep in particular is sensitive to these environmental factors. Under main aim 2, we will subject tree shrews to selective REM sleep deprivation instead of the total sleep deprivation we used in prior studies as an additional approach to probe REM sleep regulatory mechanisms. Finally, under main aim 3, we will collect brain material from tree shrews after different durations of sleep deprivation to assess the molecular correlates of sleep loss. In the tree shrews this will be restricted to acute sleep deprivation by manual stimulation up to 12h in accordance with our published study (Coolen et al., Sleep 2012).

Also in the European starling we already performed the first studies to assess basic sleep-wake patterns and homeostatic recovery responses to short sleep deprivation, which are part of an ongoing PhD project [REDACTED]. In the first study, we assessed sleep and sleep homeostasis under standard laboratory conditions (LD 12/12, 21 C). In follow-up studies, we will extend these findings by assessing sleep under different environmental conditions (main aim 1), by assessing sleep under conditions of more chronic sleep restriction (main aim 2), and by assessing the molecular correlates of acute sleep

deprivation or chronic sleep restriction (main aim 3). Under main aim 2 and 3, we will follow up on the acute sleep deprivation studies by assessing sleep-homeostatic responses and molecular consequences of sleep loss in the starling under conditions of more chronic sleep restriction. We aim to perform a controlled laboratory study during which we will experimentally manipulate and reduce sleep time by making the birds work for their food according to well-established methodology in our institute (Wiersma et al., J Exp Biol 2005).

Finally, the jackdaw will be developed as a new species for sleep studies by experiments in accordance with main aim 1 and 2. Sleep-wake behavior and sleep architecture (amount and distribution of NREM and REM sleep), as well as the homeostatic recovery responses to brief sleep deprivation (increases in sleep duration or sleep intensity after different durations of acute sleep deprivation) will be determined by means of the well-validated and standard procedures also used for the other species. Depending on the outcome of this first study and whether or not jackdaws differ from other bird species such as the starling, we will decide on the strategy for future studies that may link sleep to the specific cognitive capabilities of jackdaws (new grant application and CCD application).

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

In this project we study sleep in 3 different non-rodent species: the tree shrew, starling and jackdaw. The parallel between the studies in all 3 species is that experiments are aimed at determining sleep homeostasis and the effects of environmental conditions on sleep. Additionally, in 2 of the species for which sleep recordings were already developed (tree shrew and starling), we will assess the molecular correlates of sleep loss to test current hypothesis on the role of sleep in neuronal plasticity that are largely based on studies in rodents. The main research lines below are again numbered in accordance with the main aims described in section 3.2.

1) Assessment of sleep-wake patterns and sleep architecture under different environmental conditions (tree shrew, starling, jackdaw) = dierproef 1 (bijlage)

In these experiments we aim to assess how sleep is affected by different environmental conditions, particularly different light-dark conditions, different ambient temperatures, and, in the starling, different social housing conditions. Animals will undergo surgery to equip them with electrodes for recording brain activity (electroencephalogram, EEG) and muscle activity (electromyogram, EMG), which is required for distinguishing between wakefulness, NREM sleep and REM sleep. The experiments follow a standard protocol:

- surgery for implantation of EEG/EMG electrodes
- recovery and adaptation to the recording environment for 2 weeks
- 2 or 3 days recording of EEG/EMG signals to assess sleep-wake patterns and sleep architecture

2a) Assessment of sleep homeostatic responses to acute sleep deprivation of different durations (tree shrew, starling, jackdaw) = dierproef 2 (bijlage)

In these experiments we will measure sleep under baseline conditions and after acute sleep deprivation of different durations, up to a maximum duration of 12h. Sleep deprivation will be achieved by manual stimulation according to established procedures (sounds, gently touching the animals). The standard protocol for these experiments is:

- surgery for implantation of EEG/EMG electrodes (we aim to re-use animals as under 1)
- recovery from surgery and adaptation to the recording environment for 2 weeks
- 3 to 4 days recording of EEG/EMG signals to assess sleep-wake pattern and sleep architecture (baseline - sleep deprivation - recovery sleep)

2b) Assessment of sleep under conditions of working for food (only in the starling) = dierproef 3 (bijlage)

In these experiments in the starling, we will follow up on the acute sleep deprivation studies by measuring sleep-wake patterns under conditions of more

chronic sleep restriction. We will experimentally manipulate and reduce sleep time by making the birds work for their food according to well-established methodology in our institute (Wiersma et al., J Exp Biol 2005). The birds will be housed individually in flight cages where they can earn their food by flying between two perches. After training, sleep will be measured under conditions of different work load. The standard protocol of the experiments is:

- surgery for implantation of EEG/EMG electrodes (we aim to re-use animals under 1 and 2)
- recovery and adaptation to the flight cages for 2 weeks
- training birds to work for food
- recording of EEG/EMG signals under conditions of different work loads

3) Assessment of the molecular correlates of sleep loss by collecting brain material after sleep deprivation (tree shrew, starling) = dierproef 4 (bijlage)
We will extend our initial EEG studies in tree shrews and starling with assessment of molecular correlates of sleep loss by collecting brain tissue after different durations of sleep deprivation and/or subsequent recovery sleep. Acute sleep deprivation up to a maximum duration of 12h will be achieved by manual stimulation as (tree shrew, starling). Chronic sleep deprivation will be achieved by sleep deprivation by the working for food protocol (starling). Brains tissue will be collected for PCR, Western blot analysis, immunohistochemistry. This will be the final experiment, for which we can use animals that have already been included in 1 and 2.

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.

Much of our current the knowledge on sleep, particularly at the molecular level, is based on studies in rats and mice. This project will go beyond this narrow approach and broaden the view by studying sleep in 3 different non-rodent species - the tree shrew, the starling and the jackdaw - each chosen for specific reasons described above. The straightforward parallel between the studies in the different species is that all experiments are aimed assessing sleep homeostasis and how that is affected by environmental conditions. Additionally, in 2 of the 3 species for which sleep recordings were already developed - the tree shrew and starling - we will assess the molecular correlates of sleep loss to test current hypothesis on the role of sleep in neuronal plasticity that until now are largely based on studies in rodents.

As described in section 3.4.1, the studies in the 3 different species can run largely independent from each other but for each species there is a logical sequence in the experiments that follow the description of the aims in section 3.2:

- 1) Assessment of sleep-wake patterns and sleep architecture under different environmental conditions (in all species)
- 2) Assessment of homeostatic sleep responses to sleep deprivation of different durations, either acute (in all species) or chronic (in the starling)
- 3) Assessment of the molecular correlates of sleep loss by collecting brain material after sleep deprivation (in tree shrews and starling). This will be the final experiment, for which we can use animals that have already been included in 1 and 2.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Assessment of sleep-wake patterns and sleep architecture under different environmental conitions
2	Assessment of sleep homeostatic response to sleep deprivation of different durations
3	Assessment of sleep under conditions of working for food
5	Collection of brain material after different durations of sleep deprivation and subsequent recovery sleep
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.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|---|
| 1 | Assessment of sleep-wake patterns and sleep architecture under different environmental conditions |

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.

Published data suggest that sleep is sensitive to environmental conditions, including light and temperature, but few systematic studies in species other than nocturnal rodents have been performed. In certain species, sleep-wake patterns may be partly shaped by the social environment as well. Particularly in birds, the occurrence of unihemispheric sleep, which does not occur in laboratory rats and mice, may in part depend on the position of individuals in a group (et al. Nature 1999). In these experiments we will study how sleep in the tree shrew, starling and jackdaw is affected by different environmental conditions, particularly different light-dark conditions, different ambient temperatures, and, in the starling, different social housing conditions. The animals will be equipped with electrodes for recording brain activity (electroencephalogram, EEG) and muscle activity (electromyogram, EMG), which is necessary to be

able to distinguishing between wakefulness, NREM sleep and REM sleep. Based on the EEG/EMG recordings we will be able to assess detailed sleep-wake patterns and sleep architecture (NREM and REM sleep on 10 sec basis). In addition, the EEG signals will be subjected to spectral analysis that provides information about the quality and intensity of sleep. Particularly, EEG power in the 1-4Hz range is an established marker of NREM sleep intensity.

The standard protocol for the experiments is as follows:

- surgery for implantation of EEG/EMG electrodes
- recovery and adaptation to the recording environment for 2 weeks
- animals will be subjected to different conditions in a cross-over design, each time with sufficient time for habituation in between
- in each condition, EEG/EMG signals will be recorded for 3 days to assess sleep-wake patterns and sleep architecture

Animals will be exposed to the following varying environmental conditions:

- varying light/dark cycles (standard 12-12 LD cycle, LD cycle with short 2-6h light phase, LD cycle with long 18-22h light phase)
- varying ambient temperature (average temperature of 18-24C, low temperature of 0-6C, high temperature of 28-34C)
- varying social structure (isolated versus group housed; only in the starling)

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.

At the start of the project, the animals will undergo surgery for implantation of EEG electrodes for recording of cortical brain activity and EMG electrodes for recording of neck muscle activity. Surgeries will be performed under full isoflurane anaesthesia. Holes are drilled into the skull for placement of EEG electrodes on the cortex. The electrode plug is fixed on the skull with dental cement and the wound is closed tightly around it. After surgery, the animals will be allowed at least 1 week of recovery before the start of recordings. For experiments, the electrodes are connected to a miniature transmitter or datalogger (1,5-2g) that allow for wireless recordings in freely moving animals. Animals will be habituated to wearing a miniature datalogger by placing dummy loggers with gradually increasing weight during the recovery phase after surgery.

Sleep-wake patterns and sleep architecture will be measured for 2-3 days under various LD cycles and ambient temperatures. Each individual animal will be subjected to different LD cycles and different ambient temperatures. We will nest the different temperatures within the LD conditions so that animals will only have to adjust to each photoperiod once. There will be at least one week of adjustment time in between each new photoperiod-temperature condition prior to the 3 days of recording. The estimated duration of a full and continuous series of recordings in this case is: 3 different LD cycles x 3 different ambient temperatures x 10 days (7 habituation days + 3 recording days) = 90 days. These recordings will be performed in animals that are housed individually because the social housing in itself may cause major variation in sleep-wake patterns.

In the starling we will specifically address the question of social effects on sleep by comparing sleep of individually housed animals with sleep in socially housed animals. Also in this case, animals will be adapted to the different social housing conditions for at least a week prior to the EEG/EMG recordings. These recordings under different social housing conditions will be performed after the photoperiod-temperature experiments. In this case, the recordings are extended with another 2 x 10 days (isolated versus socially housed).

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

The number of animals will be minimized by studying the effects of varying environmental conditions in a cross-over design and a within-individual comparison. In other words, all animals will be subjected to multiple conditions. Once we have sleep data from the first recordings, power analysis will be applied where possible to estimate the required number of animals for further experiments.

B. De dieren

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

The studies will be performed in 3 different species:

- Tree shrew (colony of animals at our own institute, originally acquired from the breeding colony of collaborators in Gottingen); n=20; adult
- European starling (colony of wild-caught birds at our institute); n=20; adult
- Jackdaw (wild caught animals, covered by the license of our institute); n=20; adult

We have selected these 3 species because they are day-active, non-rodent species (as opposed to the nocturnal rats and mice, most commonly used in sleep research). In addition, the tree shrew belongs to a group of animals that is much closer to primates than to rodents and also in this sense looks more like humans than the usual rats and mice. Moreover, the tree shrew can be kept in a laboratory setting very well and is an established model for experimental research (Fuchs and Corbach-Sohle, UFAW Handbook 2010). Importantly, we already have experience with this species ourselves and the results acquired in our first experiments are partly driving the new experiments (Coolen et al., Sleep 2012).

We have selected the starling and the jackdaw also because they are birds, which, from a phylogenetic and evolutionary perspective, is an interesting group in itself. In general, birds have many features of sleep in common with mammals, including the occurrence of NREM and REM sleep (Siegel, Trends in Neurosci 2008). Moreover, various studies in birds have shown sleep-dependent learning and memory processes, in particular in relation to song learning (Brawn et al., J Neurosci 2010; Shank and Margoliash, Nature 2009). This suggests that sleep plays an important role in supporting brain function and cognitive processes in birds, very similar to what has been reported for mammals. Yet, at the same time, studies of sleep in birds may also lead to surprising findings and novel insights. For example, it was recently shown that pectoral sandpipers are able to maintain high behavioural performance despite a massive reduction in sleep time during a 3-week period of intense male-male competition for access to fertile females (Lesku et al., Science 2012). Moreover, males that slept the least ultimately produced the most offspring. These findings challenge the common view emerging from studies in mammals that decreased performance is an inescapable outcome of sleep loss and beg for follow-up studies under more controlled conditions. For that reason, we selected the European starling and the jackdaw as a model species for experiments that will bridge the gap between ecological and evolutionary studies on sleep in birds and laboratory studies on the neurobiological and molecular underpinnings of sleep performed in rodents. The starling has proven to be a suitable laboratory species and we have ample experience with these birds at our institute (e.g., Wiersma et al., J Exp Biol 2005). It has the appropriate size for EEG recordings with miniature data loggers and we recently successfully performed the first sleep recordings (in progress). The jackdaw is particularly interesting because it belongs to the Corvids, which are known for their cognitive abilities that appear to be the most complex among birds, in some cases comparable to those found only in primates (Clayton and Emery, Neuron 2015). Given their ability to perform complex tasks, and associated large brains, Corvids could serve as a powerful model in which to examine the role sleep plays in avian brain function. An unconfirmed early study on Corvids reported very low amounts of REM sleep (Szymczak, Acto Neurobiol Exp 1989), which again makes it an interesting model to study (REM) sleep homeostasis.

For none of the 3 selected species we have information on changes in sleep in response to varying LD cycles and ambient temperature. Based on our first studies under standard laboratory conditions (LD 12/12 and 21C) and the interindividual variation in sleep under these conditions, we expect that 20 animals should be enough to find effects of changing environmental conditions. This requested sample size includes an expected loss of 20% due to malfunctioning transmitters/loggers, disturbed EEG signals, loss of implants due to wear and tear in the course of experiments, etc.

Both sexes will be used in this study. In many experiments with mammalian rodent models, only males are used to avoid additional variation in behavior and physiology as a consequence of the estrous cycle. However, female tree shrews do not have a spontaneous estrous cycle, but instead are so-called “reflex ovulators”, meaning that the reproductive cycle is induced by the presence of a male. Therefore, when female individuals are separated from males, they can be used for experimental research without the added variation caused by hormone cycling that occurs in most other laboratory species.

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.

Replacement is not possible. Sleep homeostasis is a complex phenomenon and our questions can only be addressed in living animals. We have also selected the 3 species for specific reasons as described under B.

To keep the number of animals to a minimum, we have chosen for a cross-over design and a within-individual comparison, as opposed to studying independent groups for each environmental condition.

Refinement is achieved by using state-of-the-art light-weight miniature transmitters or dataloggers, which allow for recording of EEG/EMG signals in freely moving animals as opposed to a tethered system with recording cables that is still applied in many sleep studies. Obviously, such tethered recordings would not work in birds. Even though the dataloggers are small and have very little weight, we will minimize the discomfort of wearing them by habituating the animals with dummy loggers of gradually increasing weight in the recovery week after surgery.

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.

Surgeries are performed under full anesthesia. Other than that, we do not anticipate major pain or suffering. The manipulations of environmental conditions in our studies are in the range of what these animals would experience under natural conditions and can be expected to adapt to.

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.

Based on literature search and attendance of major sleep conference in recent years, we are sure that similar studies in these species are not taking place anywhere else. Also, one the of the world's experts in [REDACTED] is a collaborator on this project.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

In addition to the surgery for implantation of EEG/EMG electrodes, covered under point H, wearing the EEG/EMG electrodes and dataloggers in itself may cause mild additional discomfort.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

The dataloggers on the head have a certain, minimal, weight that the birds have to carry around.

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

During the recovery week after surgery, health status and wound healing will be inspected on a regular basis and animals will be habituated to wearing the dataloggers using dummy loggers of gradually increasing weight.

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.

Occasionally, animals will lose the EEG implant, in which case the animal will be removed from the experiment and terminated.

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

The risk of losing an implant increases with longer duration experiments. Eventually this may be up to 20%.

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 main discomfort in these experiments stems from the surgery (moderate discomfort). The manipulations of the environmental conditions are withing

the natural range (mild discomfort). Since we allow animals full recovery before starting the EEG/EMG recordings and manipulation of the environmental conditions, the total discomfort of the experiment as a whole remains moderate.

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.

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



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.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|--|
| 2 | Assessment of sleep-homeostatic response to sleep deprivation of different durations |

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.

It is well established that humans, rats, and mice display a homeostatic response to sleep deprivation, that is, they catch up for lost sleep by showing a rebound sleep. This rebound is particularly clear for NREM sleep but less convincing (and perhaps species-dependent) for REM sleep. However, a careful and quantitative assessment of sleep homeostatic responses has been performed in few species other than the beforementioned usual suspects. In this project, we will use the tree shrew, the starling and the jackdaw for a further phylogenetic analysis of the sleep homeostatic concept.

In each case, the standard protocol for the experiments is:

- surgery for implantation of EEG/EMG electrodes
- recovery from surgery and adaptation to the recording environment for 2 weeks
- 3 to 4 days recordings of EEG/EMG signals, which includes a baseline day, an experimental day with sleep deprivation, and subsequent recovery days
- animals will be subjected to different durations of sleep deprivation in semi-random order, each time with sufficient time for recovery in between

Based on the EEG/EMG recordings we will be able to assess sleep-wake patterns and distribution of NREM and REM sleep on a 10 sec basis. We will further be able to determine the precise sleep rebound after sleep deprivation, both in terms of compensatory sleep time as well as increased sleep intensity. Sleep intensity is reflected in spectral characteristics of the EEG. Particularly, EEG power in the 1-4Hz range has been established as a marker of NREM sleep intensity in several mammalian species. This EEG slow-wave activity increases as a function of the duration of prior wakefulness. In other words, the longer the animal is awake, the higher EEG slow-wave activity during subsequent NREM sleep.

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.

At the start of the project, the animals will undergo surgery for implantation of EEG electrodes for recording of cortical brain activity and EMG electrodes for recording of neck muscle activity. Surgeries will be performed under full isoflurane anaesthesia. Holes are drilled into the skull for placement of EEG electrodes on the cortex. The electrode plug is fixed on the skull with dental cement and the wound is closed tightly around it. After surgery, the animals will be allowed at least 1 week of recovery before the start of recordings. For experiments, the electrodes are connected to a miniature transmitter or datalogger (1,5-2g) that allow for wireless recordings in freely moving animals. Animals will be habituated to wearing a miniature datalogger by placing dummy loggers with gradually increasing weight during the recovery phase after surgery.

Sleep-wake patterns and sleep architecture will be measured for 3-4 days, which includes a baseline day, and experimental day with sleep deprivation, and 1 or 2 recovery days thereafter. During the experimental days, animals will be subjected to sleep deprivation for up to maximum duration of 12h (ranging between 3h and 12h). Each animal will be subjected to sessions of sleep deprivation of different durations (not more than 3), with at least one week in between the sessions to ensure full recovery. Multiple sleep deprivation sessions of different duration are required to establish the 'dose-response' relationship (dose= different durations of sleep deprivation; response = the magnitude of the sleep rebound in terms of both compensatory sleep time and sleep intensity).

Brief sleep deprivation will be achieved by manual stimulation whenever the animals displays signs of sleep. Stimulation primarily involves sounds made by ticking on the cage, gently shaking the cage, or if necessary gently touching the animal when it no longer responds to sounds or shaking. To specifically address the question of REM sleep homeostasis, in some experiments animals will be subjected to selective REM sleep deprivation by only stimulating the animals upon signs of REM sleep (transition from the high-amplitude slow-wave EEG pattern of NREM sleep to low-amplitude faster-wave REM sleep EEG pattern, as seen on the computer screen of the data collection system).

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

The number of animals will be minimized by studying the effects of different durations of sleep deprivation in a cross-over design and a within-individual comparison. In other words, all animals will be subjected to multiple sleep deprivation sessions. A week of recovery sleep in between the sessions is sufficient

for full recovery.

B. De dieren

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

The studies will be performed in 3 different species:

- Tree shrew (colony of animals at our own institute, originally acquired from the breeding colony of collaborators in Gottingen); n=20; adult
- European starling (colony of wild-caught birds at our institute); n=20; adult
- Jackdaw (wild caught animals, covered by the license of our institute); n=20; adult

We have selected these 3 species because they are day-active, non-rodent species (as opposed to the nocturnal rats and mice, most commonly used in sleep research). In addition, the tree shrew belongs to a group of animals that is much closer to primates than to rodents and also in this sense looks more like humans than the usual rats and mice. Moreover, the tree shrew can be kept in a laboratory setting very well and is an established model for experimental research (Fuchs and Corbach-Sohle, UFAW Handbook 2010). Importantly, we already have experience with this species ourselves and the results acquired in our first experiments are partly driving the new experiments (Coolen et al., Sleep 2012).

We have selected the starling and the jackdaw also because they are birds, which, from a phylogenetic and evolutionary perspective, is an interesting group in itself. In general, birds have many features of sleep in common with mammals, including the occurrence of NREM and REM sleep (Siegel, Trends in Neurosci 2008). Moreover, various studies in birds have shown sleep-dependent learning and memory processes, in particular in relation to song learning (Brawn et al., J Neurosci 2010; Shank and Margoliash, Nature 2009). This suggests that sleep plays an important role in supporting brain function and cognitive processes in birds, very similar to what has been reported for mammals. Yet, at the same time, studies of sleep in birds may also lead to surprising findings and novel insights. For example, it was recently shown that pectoral sandpipers are able to maintain high behavioural performance despite a massive reduction in sleep time during a 3-week period of intense male-male competition for access to fertile females (Lesku et al., Science 2012). Moreover, males that slept the least ultimately produced the most offspring. These findings challenge the common view emerging from studies in mammals that decreased performance is an inescapable outcome of sleep loss and beg for follow-up studies under more controlled conditions. For that reason, we selected the European starling and the jackdaw as a model species for experiments that will bridge the gap between ecological and evolutionary studies on sleep in birds and laboratory studies on the neurobiological and molecular underpinnings of sleep performed in rodents. The starling has proven to be a suitable laboratory species and we have ample experience with these birds at our institute (e.g., Wiersma et al., J Exp Biol 2005). It has the appropriate size for EEG recordings with miniature data loggers and we recently successfully performed the first sleep recordings (██████ et al., in progress). The jackdaw is particularly interesting because it belongs to the Corvids, which are known for their cognitive abilities that appear to be the most complex among birds, in some cases comparable to those found only in primates (Clayton and Emery, Neuron 2015). Given their ability to perform complex tasks, and associated large brains, Corvids could serve as a powerful model in which to examine the role sleep plays in avian brain function. An unconfirmed early study on Corvids reported very low amounts of REM sleep (Szymczak, Acto Neurobiol Exp 1989), which again makes it an interesting model to study (REM) sleep homeostasis.

For none of the 3 selected species we have information on changes in sleep in response to varying LD cycles and ambient temperature. Based on our first studies under standard laboratory conditions (LD 12/12 and 21C) and the interindividual variation in sleep under these conditions, we expect that 20 animals should be enough to find effects of changing environmental conditions. This requested sample size includes an expected loss of 20% due to malfunctioning transmitters/loggers, disturbed EEG signals, loss of implants due to wear and tear in the course of experiments, etc.

Based on our experience and earlier studies in various species under standard laboratory conditions (LD 12/12 and 21C), we expect that a sample size of 20 should be enough to establish whether animals display a meaningful homeostatic response to acute total sleep deprivation or selective REM sleep deprivation (in the order of magnitude of 1 standard deviation in case of sleep deprivation of the shortest duration; although this may partly depend on the species and the specific read out of the sleep rebound, i.e, NREM sleep EEG slow-wave activity, NREM sleep time, REM sleep time). This requested sample size includes an expected loss of 20% due to disturbed EEG signals, malfunctioning transmitters/loggers, loss of implants due to wear and tear in the course of experiments, etc.

Both sexes will be used in this study. In many experiments with mammalian rodent models, only males are used to avoid additional variation in behavior and physiology as a consequence of the estrous cycle. However, female tree shrews do not have a spontaneous estrous cycle, but instead are so-called "reflex ovulators", meaning that the reproductive cycle is induced by the presence of a male. Therefore, when female individuals are separated from males, they can be used for experimental research without the added variation caused by hormone cycling that occurs in most other laboratory species.

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.

Animals from experiment 1 (assessment of sleep-wake patterns and sleep architecture under different environmental conditions) that are in good shape, have intact implants and good EEG signals, can be re-used for this second experiment after a proper period of recovery and re-adaptation to the standard conditions (LD 12/12 and 21C).

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.

Replacement is not possible. Sleep homeostasis is a complex phenomenon and our questions can only be addressed in living animals. We have also selected the 3 species for specific reasons as described under B.

To keep the number of animals to a minimum, we have chosen for a cross-over design and a within-individual comparison, as opposed to studying independent groups for each sleep deprivation session. We think this is justified because animals are expected to recover from brief sleep deprivation without long-lasting after effects.

Refinement is achieved by using state-of-the art light-weight miniature transmitters or dataloggers, which allow for recording of EEG/EMG signals in freely moving animals as opposed to a tethered system with recording cables that is still applied in many sleep studies. Obviously, such tethered recordings would not work in birds. Even though the dataloggers are small and have very little weight, we will minimize the discomfort of wearing them by habituating the animals with dummy loggers of gradually increasing weight in the recovery week after surgery.

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.

Surgeries are performed under full anesthesia. Other than that, we do not anticipate major pain or suffering. The maximum duration of sleep deprivation is within the range of a normal resting phase and considered mild.

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.

Based on literature search and attendance of major sleep conference in recent years, we are sure that similar studies in these species are not taking place anywhere else. Also, one of the world's experts in [REDACTED] a collaborator on this project.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

In addition to the surgery for implantation of EEG/EMG electrodes, covered under point H, wearing the EEG/EMG electrodes and dataloggers in itself may cause mild additional discomfort. Additionally, the animals will undergo multiple sessions (max 3) of brief sleep deprivation by manual stimulation (max 12h).

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

The dataloggers on the head have a certain, minimal, weight that the birds have to carry around. Additionally, sleep deprivation by manual stimulation may cause mild discomfort because we expect that a need and drive for sleep will build up.

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

During the recovery week after surgery, health status and wound healing will be inspected on a regular basis and animals will be habituated to wearing the dataloggers using dummy loggers of gradually increasing weight. The discomfort of sleep deprivation cannot be avoided because it is our main experimental variable in this experiment, but the discomfort is mild because the duration is short and within the range of a normal resting phase (which in rodents still leads to a significant sleep rebound).

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.

Occasionally, animals will lose the EEG implant, in which case the animal will be removed from the experiment and terminated.

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

The risk of losing an implant increases with longer duration experiments. Eventually this may be up to 20%.

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 main discomfort in these experiments stems from the surgery (moderate discomfort). The duration of the sleep deprivation sessions is modest and within the range of a normal resting phase (mild discomfort). Since we allow animals full recovery before starting the EEG/EMG recordings and sleep deprivation sessions, the total discomfort of the experiment as a whole remains moderate.

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.

For the jackdaws, this sleep deprivation experiments are the final experiment and animals cannot be maintained for further experimentation. The starling and tree shrews that remain after this experiment can be used to collect brain material under experiment 4.

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



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><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr><tr><td>3</td><td>Assessment of sleep under conditions of working for food</td></tr></table>	Volgnummer	Type dierproef	3	Assessment of sleep under conditions of working for food
Volgnummer	Type dierproef					
3	Assessment of sleep under conditions of working for food					

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.

It is well established that humans, rats, and mice display a homeostatic response to sleep deprivation, that is, they catch up for lost sleep by showing a rebound sleep. This rebound is particularly clear for NREM sleep but less convincing (and perhaps species-dependent) for REM sleep. However, a careful and quantitative assessment of sleep homeostatic responses has been performed in few species other than the usual suspects. Moreover, most of the available data are concerned with acute sleep deprivation and little information exists on more chronically restricted sleep as it often occurs in the real world (e.g., in birds during the reproductive season when workload is high or in humans beings living in a modern 24/7 society).

In this experiment we will assess sleep and sleep homeostasis in the European starling under conditions of restricted sleep. Chronic manipulation of sleep time will be achieved by housing animals and in flight cages where they have to work for their food. The protocol for this experiment is:

- surgery for implantation of EEG/EMG electrodes
- recovery from surgery and adaptation to the flight cages for 2 weeks
- training birds to work for food
- recording EEG/EMG signals in birds on different work loads and, thereby, different degrees of chronic sleep disturbance

Based on the EEG/EMG recordings we will be able to assess sleep-wake patterns and distribution of NREM and REM sleep on a 10 sec basis. We will further be able to determine measures of sleep quality and sleep intensity on the basis of EEG spectral analysis. Particularly, EEG power in the 1-4Hz range has been established as a marker of NREM sleep intensity in several mammalian species.

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.

At the start of the project, the birds will undergo surgery for implantation of EEG electrodes for recording of cortical brain activity and EMG electrodes for recording of neck muscle activity. Surgeries will be performed under full isoflurane anaesthesia. Holes are drilled into the skull for placement of EEG electrodes on the cortex. The electrode plug is fixed on the skull with dental cement and the wound is closed tightly around it. After surgery, the animals will be allowed at least 1 week of recovery before the start of the experiments. For experiments, the electrodes are connected to a miniature transmitter or datalogger (1,5-2g) that allow for wireless recordings in freely moving animals. The birds will be habituated to wearing the miniature datalogger by placing dummy loggers with gradually increasing weight during the recovery phase after surgery.

After recovery from surgery, the birds will be housed individually in flight cages where they earn their food by flying between two perches (Wiersma et al., J Exp Biol 2005). The flight cages are 6.5 meters long (flight distance 6.15 m), and they will be fed with food they know from their standard housing conditions. The feeding perch is suspended from a load cell, allowing us to record mass every time a bird feeds. To expose birds to increasing work loads, they have to fly an increasing number of times between the perches to earn a food reward (e.g., 2, 4 or 6 return flights per food reward). An increase work load is will be applied to result in stronger restriction of sleep time. The birds will first be trained to work for food at the lowest possible level, i.e., a level at which they fly only little more than they would spontaneously. It is our earlier experience that the starlings quickly learn how to earn their food. After this initial training (about one week), the number of flights required per reward will gradually be changed to one of the three desired levels (2, 4 or 6 flights per reward, all above the spontaneous flight level). The animals will remain on this work load level for 10 days, and the last 3 days EEG will be recorded. The next two 10-day periods the birds will experience the other two workload levels, in a pre-determined order such that on balance there is no correlation between workload and order. If necessary, we will adjust the flight costs based on the behaviour and mass of the starlings in the course of the experiment, and the given numbers can therefore be considered upper limits of the work load that will be imposed.

The sleep variables that we will compare between treatments are total duration of sleep during the day and the night, the proportion and temporal distribution of time spent in different sleep stages (NREM and REM sleep), and the intensity of NREM sleep (EEG slow-wave activity sleep).

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

The number of animals will be minimized by studying the effects of different work loads in a cross-over design and a within-individual comparison. In other

words, all animals will be subjected to the 3 different work loads.

B. De dieren

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

European starling (colony of wild-caught birds at our Institute); n=20; adult (both sexes will be used)

We have selected the European starling for this experiment because it is a day-active and non-rodent species (as opposed to the nocturnal rats and mice most commonly used in sleep research). In addition, we have selected the starling because it is a bird species, which, from a phylogenetic and evolutionary perspective, is an interesting group in itself. In general, birds have many features of sleep in common with mammals, including the occurrence of NREM and REM sleep (Siegel, Trends in Neurosci 2008). Moreover, various studies in birds have shown sleep-dependent learning and memory processes, in particular in relation to song learning (Brawn et al., J Neurosci 2010; Shank and Margoliash, Nature 2009). This suggests that sleep plays an important role in supporting brain function and cognitive processes in birds, very similar to what has been reported for mammals. Yet, at the same time, studies of sleep in birds may also lead to surprising findings and novel insights. For example, it was recently shown that pectoral sandpipers are able to maintain high behavioural performance despite a massive reduction in sleep time during a 3-week period of intense male-male competition for access to fertile females (Lesku et al., Science 2012). Moreover, males that slept the least ultimately produced the most offspring. These findings challenge the common view emerging from studies in mammals that decreased performance is an inescapable outcome of sleep loss and beg for follow-up studies under more controlled conditions. For that reason, we selected the European starling as a model species for experiments that will bridge the gap between ecological and evolutionary studies on sleep in birds and laboratory studies on the neurobiological and molecular underpinnings of sleep performed in rodents. Finally, the starling has proven to be a suitable laboratory species and we have ample experience with these birds at our institute (e.g., Wiersma et al., J Exp Biol 2005). It has the appropriate size for EEG recordings with miniature data loggers and we recently successfully performed the first sleep recordings [REDACTED] et al., in progress).

We have no information on sleep and changes in sleep under conditions of increased workload but we expect that 20 animals should be enough to establish the sleep changes in response to increasing work load. This requested sample size includes an expected loss of 20% due to malfunctioning dataloggers, disturbed EEG signals, loss of implants due to wear and tear in the course of experiments, etc.

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.

Animals from experiments described in 'bijlage dierproef 1/2' that are in good shape, have intact implants and good EEG signals, can be re-used for this experiment after a proper period of recovery and adaptation to the flight cages.

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.

Replacement is not possible. Sleep and sleep homeostasis are a complex phenomenon and our questions can only be addressed in living animals. We have selected the starling as our model species because: A) it is a bird as opposed to the rodents that are usually used for sleep restriction studies; B) it has the right size to carry a datalogger without being hampered in flight; and C) we have experience with this species in the flight cage set up.

To keep the number of animals to a minimum, we have chosen for a cross-over design and a within-individual comparison, as opposed to studying independent groups for each work load.

Refinement is achieved by using state-of-the art light-weight miniature transmitters or dataloggers, which allow for recording of EEG/EMG signals in freely moving animals as opposed to a tethered system with recording cables that is still applied in many sleep studies. Obviously, such tethered recordings would not work in starling that need to fly and work for food. Even though the dataloggers are small and have very little weight, we will minimize the discomfort of wearing them by habituating the animals with dummy loggers of gradually increasing weight in the recovery week after surgery. Also, during the working for food protocol, the mass of the birds is automatically recorded which provides us with an online indicator of the health status of the animals. If necessary, we will reduce the work load when the body mass of a starling drops below 65 grams (which is a safe minimum for the adult starling based on earlier studies).

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.

Surgeries are performed under full anesthesia. Other than that, we do not anticipate major pain or suffering. The suffering related to working for food is expected to be mild because this manipulation is comparable to what starlings experience under natural conditions and can adapt to.

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.

Based on literature search and attendance of major sleep conference in recent years, we are sure that similar studies are not taking place anywhere else.

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.

The birds will be housed in our flight cages where they have to work for a living. Fresh drinking water is always present, and water for bathing is presented daily unless EEG is recorded (since the dataloggers are water sensitive).

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?

In addition to the surgery for implantation of EEG/EMG electrodes, covered under point H, wearing the EEG/EMG electrodes and dataloggers in itself may cause mild additional discomfort. Additionally, the animals will be trained to work for their food.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

The dataloggers on the head have a certain, minimal weight that the birds have to carry around. Additionally, the working for food protocol forces animals to be active beyond their spontaneous activity under standard lab conditions.

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

During the recovery week after surgery, health status and wound healing will be inspected on a regular basis and animals will be habituated to wearing the dataloggers using dummy loggers of gradually increasing weight. The discomfort associated with the working for food protocol cannot be avoided because it is our main experimental variable in this study, but we consider this discomfort to be mild because the manipulation is comparable to what starlings experience under natural conditions, i.e., variation in the amount of work required to gain food. Also, the work load will remain below what starlings can maximally do as assessed in this setup in previous experiments (Wiersma et al., J Exp Biol 2005). Importantly, the automated recording of body weight during the working for food protocol allows us to signal problems early and if necessary the work load will be adapted.

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.

Occasionally, animals will lose the EEG implant, in which case the animal will be removed from the experiment and terminated.

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

The risk of losing an implant increases with longer duration experiments. Eventually this may be up to 20%.

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 main discomfort in these experiments stems from the surgery (moderate discomfort). The working for food protocol, as it is a naturalistic approach, will result in mild discomfort. Since we allow animals full recovery from surgery before starting the working for food training sessions, the total discomfort of the experiment as a whole remains moderate.

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 starlings that remain after this experiment can be used to collect brain material under experiment 4.

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



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.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|---|
| 4 | Collection of brain material after different durations of sleep deprivation and subsequent recovery sleep |

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.

These experiments are driven by the hypotheses that sleep serves to support recovery and/or plasticity of the brain (i.e, nerve cells). Particularly, sleep is thought to be important for regulating synaptic strength. However, studies on the relationship between sleep, sleep deprivation and markers of synaptic strength and plasticity are largely restricted to mice and rats. We will extend our initial EEG studies on sleep homeostasis in tree shrews and starlings with an assessment of the molecular correlates of sleep and sleep loss by collecting brain tissue after different durations of sleep deprivation and/or subsequent recovery sleep.

This experiment will be performed in tree shrews and starling. Brains will be collected after specific periods of acute sleep deprivation by manual stimulation for up to 12h or after a day of recovery sleep (in accordance with experiments described in 'bijlage dierproef 2'). In the starling, we will additionally collect brains after 10 days chronic sleep manipulation by the working-for-food protocol or after a 1 or 5 days of recovery sleep (in accordance with experiments described in 'bijlage dierproef 3').

Brains will be collected fresh or by perfusion fixation, depending on the requirements of subsequent analysis procedures (i.e, PCR, Western blot, immunohistochemistry). Based on the literature and on our own earlier work, brain tissue will be analyzed for, among others, elements of the cAMP-PKA-CREB signalling cascade and glutamate receptors.

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.

In accordance with experiments described in 'bijlage dierproef 2', brief sleep deprivation in the tree shrews and straling will be achieved by manual stimulation whenever the animals displays signs of sleep. Stimulations primarily involves sounds made by ticking on the cage or if necessary gently touching the animal when it no longer responds to sounds. To specifically address the question of REM sleep homeostasis, in some experiments animals will be subjected to selective REM sleep deprivation by only stimulating the animals upon signs of REM sleep (transition from the high-amplitude slow-wave EEG pattern of NREM sleep to low amplitude faster-wave REM sleep EEG pattern, as seen on the computer screen of the data collection system). In this experiment, because the brain collection is a terminal experiment, the animals can only be subjected to 1 single treatment (no sleep deprivation, sleep deprivation, sleep deprivation + recovery sleep).

In accordance with experiments described in 'bijlage dierproef 3', chronic sleep disturbance in the starling will be achieved by making them work for their food. These birds will be housed individually in 6,5 m long flight cages where they earn their food by flying between two perches. To reduce the number of animals and the costs of this experiment, the birds will be exposed to only one work load, that is, the work load which in previous experiment had the strongest effect on sleep time and sleep architecture. Because the chronic sleep disturbance protocol may result in cumulative and more persistent changes in the brain (e.g., Roman et al. 2005), we think it is important to collect brain for assessment of acute recovery (1 day) and long term recovery (5 days). In this experiment, because the brain collection is a terminal experiment, the animals can only be subjected to 1 single treatment (control = no working for food, working for food, working for food + 1d recovery, working for food + 5d recovery).

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

A reasonable estimate of the number of animals required for the brain analysis can be made after we have established the magnitude of the sleep changes in experiment 2 and 3. Based on the results from the EEG studies and changes in sleep, we will apply a power analysis to calculate the number of animals required for the brain analysis. Also, in the working for food experiment in starling, we minimize the number of animals by selecting only the workload that has the biggest effect in experiment 3.

B. De dieren

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

Tree shrew (we are establishing a breeding colony from the animals that are currently available at our institute); adult animals; n=80 total

- control (no sleep deprivation)
- sleep deprivation duration 1
- sleep deprivation duration 2 (max 12h)
- recovery 1d

n=10 per group x 4 treatment groups x 2 brain collection methods (fresh or fixation) = 80 animals

European starling (wild caught animals); adult animals; n=80 total

- control (no sleep deprivation)
- sleep deprivation duration 1
- sleep deprivation duration 2 (max 12h)
- recovery 1d

n=10 per group x 4 treatment groups x 2 brain collection methods (fresh or fixation) = 80 animals

European starling (wild caught animals); adult animals; n=80 total

- control = no working for food
- working for food
- working for food + recovery 1,
- working for food + recovery 5d

n=10 per group x 4 treatment groups x 2 brain collection methods (fresh or fixation) = 80 animals

We have selected the tree shrew and the starling because they are day-active and non-rodent species (as opposed to the nocturnal rats and mice, most commonly used in sleep research). In addition, the tree shrew belongs to a group of animals that is much closer to primates than to rodents and also in this sense looks more like humans than the usual rats and mice. Moreover, the tree shrew can be kept in a laboratory setting very well and is an established model for experimental research (Fuchs and Corbach-Sohle, UFAW Handbook 2010). Importantly, we already have experience with this species ourselves and the results acquired in our first experiments are partly driving the new experiments (Coolen et al., Sleep 2012).

We have selected the starling also because they are birds, which, from a phylogenetic and evolutionary perspective, is an interesting group in itself. In general, birds have many features of sleep in common with mammals, including the occurrence of NREM and REM sleep (Siegel, Trends in Neurosci 2008). Moreover, various studies in birds have shown sleep-dependent learning and memory processes, in particular in relation to song learning (Brawn et al., J Neurosci 2010; Shank and Margoliash, Nature 2009). This suggests that sleep plays an important role in supporting brain function and cognitive processes in birds, very similar to what has been reported for mammals. Yet, at the same time, studies of sleep in birds may also lead to surprising findings and novel insights. For example, it was recently shown that pectoral sandpipers are able to maintain high behavioural performance despite a massive reduction in sleep time during a 3-week period of intense male-male competition for access to fertile females (Lesku et al., Science 2012). Moreover, males that slept the least ultimately produced the most offspring. These findings challenge the common view emerging from studies in mammals that decreased performance is an inescapable outcome of sleep loss and beg for follow-up studies under more controlled conditions. For that reason, we selected the starling as a model

species for experiments that will bridge the gap between ecological and evolutionary studies on sleep in birds and laboratory studies on the neurobiological and molecular underpinnings of sleep performed in rodents.

Both sexes will be used in this study. In many experiments with mammalian rodent models, only males are used to avoid additional variation in behavior and physiology as a consequence of the estrous cycle. However, female tree shrews do not have a spontaneous estrous cycle, but instead are so-called “reflex ovulators”, meaning that the reproductive cycle is induced by the presence of a male. Therefore, when female individuals are separated from males, they can be used for experimental research without the added variation caused by hormone cycling that occurs in most other laboratory species.

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.

Animals from experiments described in 'bijlage dierproef 1-3' that are in good shape can be re-used for this final experiment after a proper period of recovery.

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.

Replacement is not possible. Sleep homeostasis is a complex phenomenon and our questions can only be addressed in living animals. We have also selected the tree shrew and the starling for specific reasons as described. To keep the number of animals to a minimum, in the working for food paradigm we only apply the work load that has the biggest effect in experiment 3.

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 do not anticipate major pain or suffering.

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.

Based on literature search and attendance of major sleep conference in recent years, we are sure that similar studies in these species are not taking place anywhere else. Also, one the of the world's experts in [REDACTED] is a collaborator on this project.

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.

The starlings in the working-for-food experiment will be housed in our flight cages where they have to work for a living. Fresh drinking water is always present, and water for bathing is presented daily.

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?

Acute sleep deprivation by manual stimulation or chronic sleep disturbance induced by the working-for-food protocol.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

The sleep deprivation by manual stimulation or chronic sleep disturbance by the working-for-food protocol may cause mild discomfort because we expect that a need and drive for sleep will build up. Additionally, the working-for-food protocol forces animals to be active beyond their spontaneous activity under standard lab conditions.

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

The discomfort of acute sleep deprivation or chronic sleep disturbance cannot be avoided because it is our main experimental variable in this study. However, the discomfort of the acute sleep deprivation is mild because the duration is short and within the range of a normal resting phase (which in rodents still leads to a significant sleep rebound). We also consider the discomfort of the working-for-food protocol to be mild because this manipulation is comparable to what starlings experience under natural conditions, i.e., variation in the amount of work required to gain food. Also, the work load will remain below what starlings can maximally do as assessed in this setup in previous experiments (Wiersma et al., J Exp Biol 2005).

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.

Both the acute sleep deprivation and the working-for-food protocol produce mild discomfort.

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.

This main aim of this experiment is to collect brain material for assesment of the molecular correlates of sleep homeostasis.

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 het Ethisch Toetsingskader en de bijbehorende toelichting waarin elke stap in het beoordelingsproces wordt toegelicht.

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: (Intern RUG code **9003**)
2. Titel van het project: **Comparative studies on the regulation of sleep and the consequences of sleep loss**
3. Titel van de NTS: **Vergelijkende studies aan de regulatie van slaap en gevolgen van slaaptekort.**
4. Type aanvraag:
 - ☐ **nieuwe aanvraag projectvergunning**
5. Contactgegevens DEC: -
 - naam DEC : **DEC-RUG**
 - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
 - mailadres contactpersoon : [REDACTED]
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC: **09-09-2015**
 - aanvraag complete: **09-09-2015**
 - in vergadering besproken: **17-09-2015**
 - anderszins behandeld: **30-11-2015**
 - termijnonderbreking(en) van / tot: **18-09-2015 tot 27-11-2015**
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen. **n.v.t.**
 - aanpassing aanvraag: **27-11-2015**
 - advies aan CCD: **23-12-2015**
7. Eventueel horen van aanvrager **n.v.t.**
 - Datum
 - Plaats
 - Aantal aanwezige DEC-leden
 - Aanwezige (namens) aanvrager
 - Strekking van de vraag / vragen

- Strekking van het (de) antwoord(en)
- Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag

8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: **18-09-2015**
- Strekking van de vraag / vragen:

Vragen t.a.v. de projectbeschrijving

De onderliggende redenen voor de keuzen voor de diersoorten lijkt ingegeven door lokale beschikbaarheid. Vanuit een vergelijkend standpunt is dit niet *per se* overtuigend, want daarvoor moet helder zijn welke specifieke vraag met welke soort het best te beantwoorden is. Twee vogelsoorten zeggen niet *per se* iets over vogels als geheel (wat is hun fylogenetisch relatie?). Dat de kauw slim is, is helder, maar waarom die dan geschikt is voor dit onderzoek niet. Tenzij in een later stadium de relatie tussen slimheid en slaapdeprivatie nader bekeken wordt. Bovendien stelt u zelf dat per soort bijzondere aanpassingen kunnen plaatsvinden (getuned naar lokale ecologische omstandigheden). Kunt u de keuzes voor de diersoorten specifieker onderbouwen?

Zijn de data van ratten en muizen op zich vergelijkbaar? Want als die al verschillen is de tegenstelling met nacht-actieve *rodents* niet helemaal juist. En zijn daar stamverschillen gevonden die al iets meer vertellen over regulatie en functie?

Vragen t.a.v. de bijlages

De dieren in het experiment worden solitair gehouden tijdens de metingen: wat zijn de effecten daarvan? Hoe worden de mogelijk negatieve effecten, als die er zijn, geminimaliseerd?

Er wordt gesuggereerd dat sociale huisvesting een effect heeft op slaap. Wat dan? En hoe relateert dit aan generaliseerbaarheid naar bijvoorbeeld mensen, die toch sociaal leven?

Worden beide seksen gebruikt?

Hoe veranderen laboratorium condities slaap-waak ritmes en wat zeggen die mogelijke veranderingen dan over de beoogde vergelijkbaarheid van soorten? Dit is van belang voor met name de relatie naar de kauw: zijn dit wildvang dieren (aanvraag suggereert dit)? Hoe lang worden die gehabitueerd aan de nieuwe situatie?

Zijn er *a priori* hypothesen te formuleren over de veranderingen in de hersenen?

Het verhogen van de *workload* als een manier om slaapdeprivatie te induceren: in hoever zijn de waargenomen effecten op het EEG/EMG specifiek voor chronische slaapdeprivatie en niet voor metabole of andere aanpassingen? Zijn er geen controles hiervoor nodig?

- Datum antwoord: **27-11-2015**

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

10. Advies van IvD

- Datum advies IvD: **17-09-2015**
- Strekking advies IvD (*zie opmerking toelichtingsdocument*)

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is.

Ja, het project is vergunningplichtig

Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies

2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.

3. Is de DEC competent om hierover te adviseren? **Ja**

4. Zijn DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies? **Nee.**

C. Beoordeling (inhoud):

1. Is de aanvraag een toetsbare eenheid? Leg uit waarom wel/niet. Geef hierbij ook aan of 1) de aanvraag als programma of project getypeerd wordt (Een programma omvat meerdere projecten en heeft een hoger gelegen doel, terwijl een project een concrete onderzoeksvraag heeft met in principe één concrete doelstelling en een helder geformuleerd resultaat), 2) het project coherent is, waarbij alle dierexperimenten logisch samenhangen en nodig zijn om het beoogde concrete resultaat te bereiken en 3) alle stappen in het project voldoende zijn uitgewerkt en geen onzekerheden bevatten, die voor de ethische toetsing relevant zouden kunnen zijn.

Ja, de aanvraag kan als een toetsbare eenheid worden beschouwd:

het gaat om onderzoek aan drie diersoorten die als samenhangend doel hebben slaap in andere dan rodent species te begrijpen en daarmee kennis te vergroten over slaap *per se* en de extrapoleerbaarheid van gegevens. De aanvraag heeft het karakter van een project waarin drie afzonderlijke en goed beschreven onderzoeksvragen in drie diersoorten tezamen een beeld geven van slaap. (zie opmerking toelichtingsdocument)

2. Zijn er aspecten in deze aanvraag die niet in overeenstemming zijn met wet- en regelgeving anders dan de Wod, zoals bijvoorbeeld de Flora en fauna wet en Wet dieren? Indien van toepassing, leg uit waarom.

Nee

3. Is/zijn de in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en)?

JA

Belangen en waarden

4. Wat is het motiverende doel van het project? (*Zie ETK, Doeleinden project pag. 2*).

Het betreft fundamenteel onderzoek.

5. Wat is het effect van het onderzoek op het welzijn van mens, dier en omgeving en wetenschappelijke kennis (zie tabel 1 van het ETK)?

Het project beoogt wetenschappelijk kennis over slaap te vergroten wat uiteindelijk ook toepasbaar kan zijn voor het beter begrijpen van slaap bij mensen

6. Worden de belangen van dieren, consumenten, burgers en omgeving (in termen van waarden) voldoende beschreven of zijn er overige belangen die voor de toetsing relevant zijn (zie tabel 2 van het ETK)? Specificeer de belangrijkste belanghebbenden (kwalitatief en kwantitatief).

Ja, er wordt voldoende beschreven waarom dieren worden gebruikt en hoe het welzijn van de dieren wordt geborgd en ongerief/pijn wordt voorkomen. *(zie opmerking toelichtingsdocument)*

7. Benoem de waarden die in het geding zijn voor de belangrijkste belanghebbenden.

Proefdieren: welzijn, autonomie en rechtvaardigheid

Onderzoekers: autonomie

8. Is er sprake van belangwekkende milieueffecten? Zo ja, leg uit waarom.

NEE

Proefopzet en haalbaarheid

9. Is het project goed opgezet? Leg uit waarom wel/niet.

Ja, de experimenten volgen de in slaaponderzoek gangbare manieren en technieken.

10. Zijn kennis en kunde van onderzoekers en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd? Licht toe waar dit uit blijkt?

Ja, de onderzoekers en (bio)technici hebben een trackrecord in dit slaaponderzoek. Nieuwe medewerkers worden door bekwame personen opgeleid.

11. Kan de gekozen strategie en experimentele aanpak leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project (*Zie ETK, Haalbaarheid pag. 4*)? Leg uit waarom wel/niet.

Ja, op deze wijze zal kennis over slaap en extrapoleerbaarheid worden verkregen.

Welzijn dieren

12. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Geef aan of en waarom de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk onderbouwd is.

De onderzoekers gebruiken tree-shrews, spreeuwen en kauwen. Ten aanzien van de kauwen is goed beschreven wat de reden is voor de keuze van deze soort. De spreeuw is wildvang. *(zie opmerking toelichtingsdocument)*

Hieronder de tabel bijzonderheden

- ☐ Bedreigde diersoort(en) (10.e.4)
- ☐ Niet-menselijke primaten (10.e)
- ☒ **Dieren in/uit het wild (10.f)**
- ☐ Gefokt voor dierproeven (11)
- ☐ Zwerfdieren (10.h)
- ☐ Hergebruik (1.e.2)
- ☐ Huisvesting en verzorging
- ☐ Locatie: instelling vergunninghouder (10.g)
- ☐ Toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)

- ☐ Dodingsmethode (13.c.3)

13. Is de kwaliteit van de huisvesting en verzorging volgens bijlage III van de richtlijn? Wordt de kwaliteit van de huisvesting en verzorging, indien afwijkend van bijlage III, voldoende geborgd? Leg uit waarom wel/niet.

De dieren worden gehuisvest volgens de richtlijnen. *(zie opmerking toelichtingsdocument)*

14. Is het ongerief als gevolg van de dierproeven realistisch ingeschat en geclassificeerd? Leg uit waarom wel/niet.

Ja, dit is realistisch ingeschat.

15. Is er sprake van integriteitsaantasting? Leg uit waarom wel/niet *(Zie ETK, Waarden, pag. 4)*.

Ja. Als een dierproef meer dan een injectie door een dierenarts behelst is per definitie de integriteit (van in ieder geval weefsels) aangetast. *(zie opmerking toelichtingsdocument)*

3V's

17. Heeft de aanvrager een overzicht gegeven van alle potentiële vervangingsalternatieven en heeft de aanvrager daar een gemotiveerde keuze in gemaakt? Onderschrijft de DEC deze keuze? Leg uit waarom wel/niet *(Zie ETK, subsidiariteit, pag. 4)*.

Ja, slaap onderzoek kan alleen in levende organismen worden gedaan *(zie opmerking toelichtingsdocument)*

18. Is het aantal te gebruiken dieren realistisch ingeschat? Is er een heldere strategie om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Leg uit waarom wel/niet *(Zie ETK, subsidiariteit, pag. 4)*.

Ja, het aantal dieren is beperkt tot wat wetenschappelijk kan worden verantwoord. *(zie opmerking toelichtingsdocument)*

19. Is het project in overeenstemming met de vereiste van verfijning van dierproeven en is het project zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd? Leg uit waarom wel/niet *(Zie ETK, subsidiariteit, pag. 4)*.

Ja, experimenten worden zodanig gedaan dat ongerief tot een minimum wordt beperkt.

20. Zijn er redenen om aan te nemen dat, bij wettelijk vereist onderzoek, duplicatie plaats vindt? Zo ja, licht dit toe.

a. Beschikt de aanvrager over voldoende expertise en informatie om tijdens het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt? Leg uit waarom wel/niet.

NVT

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

21. Worden dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet? Zo nee, is daarvoor een actuele wetenschappelijke onderbouwing? Welke maatregelen zijn verder getroffen om bij fok of aankoop van dieren het aantal in voorraad gedood te beperken (*Zie ETK, proportionaliteit en voorzorg, pag. 4*)?

Ja, beide seksen worden gebuikt.

22. Worden dieren gedood in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef)? Is dit noodzakelijk en wordt een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt (*Zie ETK, proportionaliteit en voorzorg, pag. 3*)? Licht dit toe.

Ja, er worden moleculaire analyses gedaan op hersenstructuren. Hiertoe worden de daartoe geëigende en geschikte dodingsmethoden gebruikt.

23. Indien dieren worden gedood , is adoptie of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is (*Zie ETK, proportionaliteit en voorzorg, pag. 3*).

Dit is niet mogelijk ivm analyses (zie boven)

NTS

24. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?

JA

D. Ethische afweging

1. Benoemen de centraal morele vraag (*Zie ETK, Probleem definiëren, pag. 9*).

Het verkrijgen van meer kennis over slaap rechtvaardigt het gebruik van dieren en het mogelijk ongerief dat wordt aangedaan

2. Weeg voor de ethische afweging de waarden van de verschillende belanghebbenden zoals beschreven in C ten opzichte van elkaar af. Onderbouw dit met moreel relevante feiten (*Zie ETK, Waarden, pag. 4 en Weging moreel relevante argumenten, pag. 11*).

Autonomie van onderzoek aan de kant van de onderzoeker; welzijn, autonomie en rechtvaardigheid aan de kant van het dier.

3. Beantwoord de centraal morele vraag, gebruik makend van bovenstaande afweging. Motiveer de afweging, zodanig dat deze navolgbaar is zonder gedetailleerde kennis te hebben van het projectvoorstel.

Onderzoek naar slaap buiten de mens als proefpersoon en buiten rodents die veel gebruikt zijn, is nodig om de functie en evolutie van slaap in brede zin te begrijpen. Onderzoek aan slaap bij mensen is zeer beperkt in zijn mogelijkheden van het begrijpen van moleculaire processen onderliggend/gekoppeld aan slaap. Het gebruik van de diersoorten zoals hier benoemd is daarom te rechtvaardigen. Hoewel de dieren worden geschaad in hun belangen (immers ze ervaren bijvoorbeeld ongerief door de procedures) is dit door de onderzoekers beperkt en weegt dit op tegen het belang van het onderzoek.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

☐ **X De DEC adviseert de vergunning te verlenen.**

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus of op een meerderheids-minderheidsstandpunt. Specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn (*Zie ETK, Advies pag. 12*).

CONSENSUS

3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (*Zie ETK, Proportionaliteit en voorzorg pag. 3, Subsidiariteit pag. 4, Dilemma's pag. 8 en Advies pag. 12*).

Indien van toepassing zullen dergelijke aspecten onder D3 worden verwerkt.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

[REDACTED]
A. Deusinglaan 1, [REDACTED]
9713 AV GRONINGEN
[Barcode]

**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
AVD105002015359

Bijlagen

2

Datum 28 december 2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 23 december 2015.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD105002015359. 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 1 [REDACTED]
Postcode en plaats: 9713 AV GRONINGEN
IBAN: NL45ABNA0474567206
Tenaamstelling van het
rekeningnummer: Rijksuniversiteit Groningen

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

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

Gegevens gemachtigde

BSN: [REDACTED]
Naam: [REDACTED]
Adres: A. Deusinglaan 1, [REDACTED]
Postcode en plaats: 9713 AV GRONINGEN
Wilt u een nieuwe machtiging afgeven? Nee

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 november 2015
Geplande einddatum: 1 november 2020
Titel project: Comparative studies on the regulation of sleep and consequences of sleep loss
Titel niet-technische samenvatting: Vergelijkende studies aan de regulatie van slaap en gevolgen van slaapttekort
Naam DEC: [REDACTED]
Postadres DEC: A. Deusinglaan 1, [REDACTED]
E-mailadres DEC: secrdec.umcg@umcg.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: ☒ Melding Machtiging
☒ DEC-advies

Ondertekening

Naam:



Functie:



Plaats:

Groningen



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1,

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
AVD105002015359

Bijlagen

2

Datum 28 december 2015

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 28 december 2015

Vervaldatum: 27 januari 2016

Factuurnummer: 15700359

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD105002015359	€ 741,00

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

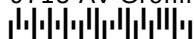


> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1

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
AVD105002015359

Uw referentie

Bijlagen

Datum 14 januari 2016

Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 24 december 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project 'Comparative studies on the regulation of sleep and the consequences of sleep loss' met aanvraagnummer AVD105002015359. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

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

- In het projectvoorstel bijlage van uw aanvraag beschrijft u verschillende proeven met tupaia, spreeuwen en kauwen. Heeft u go/no-go of beslismomenten in uw opzet opgenomen? U wordt verzocht in het kader van vermindering go/no-go momenten vast te stellen (zowel bij de start van een dierproef, tussen de behandelingen binnen een proef, als tussen de verschillende dierproeven), de criteria te beschrijven op welke wijze bepaald zal worden of wel/niet met een dierproef gestart gaat worden.

- U schrijft in uw aanvraag tupaia, spreeuwen en kauwen te willen gebruiken. Het is voor ons niet duidelijk op welk moment van de dag worden de testen uitgevoerd (24 uur, alleen over dag/'s nachts). Vooral in het geval van slaaptekort is het belangrijk in het kader van haalbaarheid van de doelstelling om te weten of de dieren doorlopend gemonitord zijn, en of het slaaptekort over dag en 's nachts plaatsvindt en wordt getest. Aangezien uw onderzoek gericht is op slaap patronen en homeostase, kan het moment van het testen van de dieren een grote invloed hebben op de resultaten. We verzoeken u om dit punt uit te werken.

Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Gebruik hierbij het formulier dat u bij deze brief krijgt indien u uw antwoord per post verstuurt. Om uw aanvraag in de

eerstvolgende vergadering van de CCD te kunnen behandelen, verzoeken we u om uw antwoord uiterlijk dinsdag, 19 januari 2016, naar ons toe te sturen.

Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat uw aanvraag compleet is. 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.

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.



Melding

Bijlagen via de post

- U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen? Voeg *altijd* deze Melding Bijlagen toe. Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt.
- Meer informatie vindt u op www.centralecommissiedierproeven.nl
- 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.*

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

Vragen van CCD over projectaanvraag AVD105002015359

Vraag 1: In het projectvoorstel bijlage van uw aanvraag beschrijft u verschillende proeven met tupaia, spreeuwen en kauwen. Heeft u go/no-go of beslismomenten in uw opzet opgenomen? U wordt verzocht in het kader van vermindering go/no-go momenten vast te stellen (zowel bij de start van een dierproef, tussen de behandelingen binnen een proef, als tussen de verschillende dierproeven), de criteria te beschrijven op welke wijze bepaald zal worden of wel/niet met een dierproef gestart gaat worden.

Wij hebben het project zo veel mogelijk opgezet zoals dat ook wordt gedaan voor beursaanvragen, waarbij elk individueel experiment waardevolle informatie zal verschaffen zonder dat het afhankelijk is van de uitkomst van andere experimenten. In dat opzicht zijn er slechts een beperkt aantal no-go momenten.

Voor wat betreft de verschillende behandelingen binnen proeven zijn er geen no-go momenten. Om een nauwkeurig beeld te krijgen van de effecten van omgevingsinvloeden op slaap zijn in de experimenten beschreven in bijlage 1 “sleep under different environmental conditions” elk van de verschillende temperaturen, verschillende LD cycli, en verschillende sociale structuren nodig. Het effect van een lage omgevingstemperatuur is immers niet noodzakelijkerwijs voorspellend voor het effect van een hoge temperatuur; evenmin zullen de resultaten van slaap gemeten onder korte dag de waarde en noodzaak van metingen bij lange dag beïnvloeden; ook kan de invloed van sociale structuur alleen worden vastgelegd wanneer slaap zowel wordt gemeten in isolatie als in groepshuisvesting. Hetzelfde geldt voor de experimenten beschreven in bijlage 2 “sleep deprivation of different durations”. Elke diersoort wordt blootgesteld aan minimaal 2 verschillende duren van slaapdeprivatie, hetgeen nodig is om een minimale slaap homeostatische ‘dosis-repons’ te bepalen. Belangrijk gegeven in het kader van vermindering is bovendien dat in alle proeven beschreven in bijlage 1, 2 en 3 telkens dezelfde dieren worden blootgesteld aan de verschillende waarden van een gegeven experimentele behandeling. M.a.w. in bijlage 1 worden dezelfde dieren blootgesteld aan verschillende omgevingstemperaturen, etc; en ook in de proeven beschreven in bijlage 2 worden dezelfde dieren onderworpen aan verschillende duren van slaapdeprivatie; en in de proeven beschreven in bijlage 3 worden dezelfde dieren blootgesteld aan verschillende “work loads”. In dat opzicht wordt met deze opzet het proefdiergebruik al geminimaliseerd.

Voor wat betreft de relatie tussen proeven is er 1 concreet go/no-go beslismoment, namelijk bij de aanvang van experimenten beschreven in bijlage 4 “collection of brain material”. Als de experimenten beschreven in bijlage 2 en 3 bij één of meerdere van de gekozen diersoorten géén duidelijke homeostatische compensatie slaap of “sleep rebound” laat zien na slaapdeprivatie, dan lijkt het meten van slaapdeprivatie-gerelateerde

veranderingen in het brein geen logisch vervolg en zal daarvan worden afgezien. Alle andere proeven zijn onafhankelijk van elkaar waardevol en dragen allen bij aan een gedetailleerd beeld van slaapregulatie en slaaphomeostase bij de 3 gekozen diersoorten. De experimenten beschreven in bijlage 1 “sleep under different environmental conditions” en de experimenten in bijlage 2 “sleep deprivation of different durations” zullen verschillende belangrijke aspecten van slaapregulatie en slaaphomeostase in kaart brengen die niet noodzakelijkerwijs afhankelijk zijn. Evenzo, is het effect van eenmalige, kortdurende slaapdeprivatie in de experimenten met spreeuwen beschreven in bijlage 2 niet noodzakelijkerwijs een goede voorspeller van de veranderingen die optreden bij de chronische slaapverstoring beschreven in bijlage 3. Dit laatste kan andere en/of cumulatieve effecten hebben op slaap die niet zichtbaar zijn bij een enkele kortdurende slaapdeprivatie. Bovendien suggereert ons eerder werk dat chronische slaapverstoring ook geleidelijke veranderingen in het brein te weeg kan brengen, bij ratten, die niet optreden bij eenmalige kortdurende slaapdeprivatie (zie bijv. Roman et al. Sleep 2005; Novati et al. Sleep 2008).

Vraag 2: U schrijft in uw aanvraag tupaia, spreeuwen en kauwen te willen gebruiken. Het is voor ons niet duidelijk op welk moment van de dag worden de testen uitgevoerd (24 uur, alleen over dag/'s nachts). Vooral in het geval van slaaptekort is het belangrijk in het kader van haalbaarheid van de doelstelling om te weten of de dieren doorlopend gemonitord zijn, en of het slaaptekort over dag en 's nachts plaatsvindt en wordt getest. Aangezien uw onderzoek gericht is op slaap patronen en homeostase, kan het moment van het testen van de dieren een grote invloed hebben op de resultaten. We verzoeken u om dit punt uit te werken.

Ik veronderstel dat de CCD met ‘testen’ bedoelt de experimentele slaapdeprivatie en/of de EEG/EMG metingen om het slaap-waak patroon vast te stellen. Voor wat betreft de EEG/EMG slaap-waak metingen zal dit in alle experimenten een continue registratie zijn met een sample frequentie van minimaal 100 Hz. Dat wil zeggen, er worden doorlopend 100 EEG en EMG voltages per seconde gemeten en opgeslagen. In het geval van de experimenten met korte slaap deprivatie (bijlage volgnummer 2 “sleep deprivation of different durations”: tupaia, spreeuw, kauw) zal deze continue registratie telkens minimaal 3-4 dagen duren, vanaf ruim voor de experimentele slaapdeprivatie (baseline dag) tot ruim na de experimentele slaapdeprivatie (experimentele dag inclusief slaap deprivatie +1 of 2 recovery dagen voor het vastleggen van de slaap rebound). In het geval van experimenten met chronische slaapverstoring/slaaprestrictie (bijlage volgnummer 3 “working for food”: spreeuw) zal deze continue registratie de laatste 3 dagen van de 10-dagen durende manipulatie plaatsvinden.

Voor wat betreft de experimentele slaapdeprivatie zelf, deze zal in het geval van de experimenten met korte slaapdeprivatie plaatsvinden in de rustfase of slaapfase van de dieren, hetgeen bij deze dag-actieve soorten de donkerfase is. Verschillende duren van slaapdeprivatie (bijv. 3h of 6h) zullen telkens aanvangen aan het begin van de donkerfase/slaapfase. Dit zal dan volgens standaard protocol gebeuren bij rood licht of dim licht, zoals ook in onze voorgaande studie aan de tupaia (Coolen et al., Sleep 2012). Uiteraard zal er alleen bij slaapdeprivatie in de normale slaapfase een duidelijke homeostatische compensatie-respons te verwachten zijn. In het geval van de chronische slaapverstoring d.m.v. “working for food” bij spreeuwen wordt de wakkerfase de dieren verlengd door een verhoging van de “work load”. Met andere woorden, de dieren werken tijdens de normale wakker-fase / actieve fase voor hun voedsel, maar naarmate de “work load” hoger wordt zal er aan het eind van de dag meer tijd van de rustfase afgaan. De (dim-)lichtperiode wordt indien nodig verlengd. Aldus, net als bij de experimenten met kortdurende slaapdeprivatie beschreven in bijlage 2 wordt ook in dit geval het begin van de rustfase in meer of mindere mate verstoord, maar dan op dagelijkse basis.

Vragen van CCD over projectaanvraag AVD105002015359 d.d. 21 jan 2016

Vraag 1: Waarom is het gekozen om de proeven met wilde kauwen uit te voeren?

Indien dieren uit het wild in proeven worden gebruikt, is er een onderbouwde motivatie vereist.

Er is gekozen om de proeven uit te voeren met wildvang omdat wij momenteel niet beschikken over dieren in gevangenschap. Er worden weliswaar mondjesmaat kauwen te koop aangeboden door hobbyisten maar de oorsprong, kweekcondities en opgroeicondities daarvan zijn meestal onduidelijk. Dat is daarom voor ons geen optie want wij willen slaap-waak gedrag en slaaphomeostase in kaart brengen bij kauwen die daadwerkelijk representatief zijn voor de soort. Belangrijk gegeven is verder dat wildvang door ons gedaan kan worden met minimaal ongerief. Het woord wildvang behoeft in dit kader enige uitleg. Een van de samenwerkende partners en co-supervisors in het beschreven project, [REDACTED], heeft al vele jaren een uiterst succesvolle onderzoekslijn lopen aan gedrag en ecologie van kauwen (zie enkele recente publicaties hieronder). Hij heeft hiervoor momenteel zo'n 100 nestkasten uitstaan in 6 regionale kauwenpopulaties. Hierdoor is niet alleen alle benodigde kennis en ervaring aanwezig om het onderzoek aan kauwen in goede banen te leiden, maar ook het vangen van de dieren is door de aanwezigheid van de nestkasten een eenvoudige procedure met minimaal ongerief (zie vraag 2).

Vraag 2: Hoe worden de wilde vogels gevangen en is het ongerief van het vangen meegerekend in de inschatting van het ongerief in uw aanvraag? Indien dieren uit het wild in proeven worden gebruikt is de aanwezigheid van deze informatie vereist.

Voor de beschreven studie zullen jongen kauwen vlak voor het uitvliegen uit de nestkast worden gehaald. Er worden hierbij nooit meer dan 2 jongen uit hetzelfde nest weggenomen. Omdat de jongen voor het uitvliegen van het nest worden gehaald wanneer ze nog niet echt in het wild hebben geleefd en omdat ze direct worden overgebracht naar de semi-natuurlijke volieres van ons instituut zal de hele procedure slechts minimaal ongerief opleveren. De jongen zijn op dat moment in staat om zelfstandig te eten en in de volieres zijn voer en water ad lib aanwezig.

[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1,
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
AVD105002015359
Bijlagen
1

02 FEB. 2016

Datum
Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Op 23 december 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Comparative studies on the regulation of sleep and consequences of sleep loss" met aanvraagnummer AVD105002015359. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 19 januari en 25 januari 2016 heeft u uw aanvraag aangevuld. U heeft gereageerd op de door de CCD gestelde vragen m.b.t. de go/no-go momenten en de tijdstip waarop de dieren getest worden, en u heeft uw keuze om wilde kauwen te gebruiken onderbouwd.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij geldt de algemene voorwaarde zoals genoemd in de vergunning. U kunt met uw project "Comparative studies on the regulation of sleep and consequences of sleep loss" starten. De vergunning wordt afgegeven van 2 februari 2016 tot en met 1 november 2020. 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 23 december 2015. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet. Op 14 januari 2016 heeft de DEC haar advies aangevuld met de antwoorden van de aanvrager op de door de DEC gestelde vragen.

Wij nemen het advies van de Dierexperimentecommissie over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Met het oog op artikel 10a1 van de wet wordt een algemene voorwaarde toegevoegd.

Dit 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 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.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:



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

Postcode en plaats: 9713 AV GRONINGEN

Deelnemersnummer: 10500

deze projectvergunning voor het tijdvak 2 februari 2016 tot en met 1 november 2020, voor het project "Comparative studies on the regulation of sleep and consequences of sleep loss" met aanvraagnummer AVD105002015359, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-RUG.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 23 december 2015
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 24 december 2015;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 24 december 2015;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 23 december 2015, ontvangen op 24 december 2015, en aangevuld op 14 januari 2016
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 19 januari 2016 en op 25 januari 2016

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Assessment of sleep-wake patterns and sleep architecture under different environmental conditions	Andere zoogdieren (andere Mammalia) / Tupaia (Tupaia belangeri)	20	Matig / moderate	Beide geslachten worden gebruikt.
Assessment of sleep-wake patterns and sleep architecture under different environmental conditions	Andere vogels (andere Aves) / 20 spreeuwen en 20 kauwen	40	Matig / moderate	Beide geslachten worden gebruikt.
Assessment of sleep-homeostatic response to sleep deprivation of different durations	Andere zoogdieren (andere Mammalia) / Tupaia	20	Matig / moderate	Beide geslachten worden gebruikt.
Assessment of sleep-homeostatic response to sleep deprivation of different durations	Andere vogels (andere Aves) / 20 spreeuwen en 20 kauwen	40	Matig / moderate	Beide geslachten worden gebruikt.
Assessment of sleep under conditions of working for food	Andere vogels (andere Aves) / Spreeuwen	20	Matig / moderate	Beide geslachten.
Collection of brain material after different durations of sleep deprivation and subsequent recovery sleep	Andere zoogdieren (andere Mammalia) / Tupaia	80	Licht / mild	Beide geslachten worden gebruikt.
Collection of brain material after different durations of sleep deprivation and subsequent recovery sleep	Andere vogels (andere Aves) / Spreeuwen	160	Licht / mild	Beide geslachten worden gebruikt.

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 Wod zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

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 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 blijvende 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 13d 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 13c 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.

De Minister heeft vrijstelling ontheffing verleend volgens artikel 13c, die de afwijkende methode van doden op basis van wetenschappelijke motivering ten minste even humaan acht als de in de richtlijn opgenomen passende methoden.

Wilde dieren

Het vangen van wilde dieren moet volgens artikel 10f van de wet door een deskundig persoon gedaan worden waarbij dieren zo min mogelijk pijn, lijden, angst of blijvende schade ondervinden. Gewonde dieren moeten onderzocht worden en behandeld, tenzij er een wetenschappelijke motivering is om niet te behandelen.

Format DEC-advies

Maak bij de toepassing van dit format gebruik van het Ethisch Toetsingskader en de bijbehorende toelichting waarin elke stap in het beoordelingsproces wordt toegelicht.

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: (Intern RUG code **9003**)
2. Titel van het project: **Comparative studies on the regulation of sleep and the consequences of sleep loss**
3. Titel van de NTS: **Vergelijkende studies aan de regulatie van slaap en gevolgen van slaaptekort.**
4. Type aanvraag:
 - ☐ **nieuwe aanvraag projectvergunning**
5. Contactgegevens DEC: -
 - naam DEC : [REDACTED]
 - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
 - mailadres contactpersoon : [REDACTED]
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC: **09-09-2015**
 - aanvraag complete: **09-09-2015**
 - in vergadering besproken: **17-09-2015**
 - anderszins behandeld: **30-11-2015**
 - termijnonderbreking(en) van / tot: **18-09-2015 tot 27-11-2015**
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermin met maximaal 15 werkdagen. **n.v.t.**
 - aanpassing aanvraag: **27-11-2015**
 - advies aan CCD: **23-12-2015**
7. Eventueel horen van aanvrager **n.v.t.**
 - Datum
 - Plaats
 - Aantal aanwezige DEC-leden
 - Aanwezige (namens) aanvrager
 - Strekking van de vraag / vragen

- Strekking van het (de) antwoord(en)
- Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag

8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: **18-09-2015**
- Strekking van de vraag / vragen:

Vragen t.a.v. de projectbeschrijving

De onderliggende redenen voor de keuzen voor de diersoorten lijkt ingegeven door lokale beschikbaarheid. Vanuit een vergelijkend standpunt is dit niet *per se* overtuigend, want daarvoor moet helder zijn welke specifieke vraag met welke soort het best te beantwoorden is. Twee vogelsoorten zeggen niet *per se* iets over vogels als geheel (wat is hun fylogenetisch relatie?). Dat de kauw slim is, is helder, maar waarom die dan geschikt is voor dit onderzoek niet. Tenzij in een later stadium de relatie tussen slimheid en slaapdeprivatie nader bekeken wordt. Bovendien stelt u zelf dat per soort bijzondere aanpassingen kunnen plaatsvinden (getuned naar lokale ecologische omstandigheden). Kunt u de keuzes voor de diersoorten specifiek onderbouwen?

Zijn de data van ratten en muizen op zich vergelijkbaar? Want als die al verschillen is de tegenstelling met nacht-actieve *rodents* niet helemaal juist. En zijn daar stamverschillen gevonden die al iets meer vertellen over regulatie en functie?

Vragen t.a.v. de bijlages

De dieren in het experiment worden solitair gehouden tijdens de metingen: wat zijn de effecten daarvan? Hoe worden de mogelijk negatieve effecten, als die er zijn, geminimaliseerd?

Er wordt gesuggereerd dat sociale huisvesting een effect heeft op slaap. Wat dan? En hoe relateert dit aan generaliseerbaarheid naar bijvoorbeeld mensen, die toch sociaal leven?

Worden beide seksen gebruikt?

Hoe veranderen laboratorium condities slaap-waak ritmes en wat zeggen die mogelijke veranderingen dan over de beoogde vergelijkbaarheid van soorten? Dit is van belang voor met name de relatie naar de kauw: zijn dit wildvang dieren (aanvraag suggereert dit)? Hoe lang worden die gehabitueerd aan de nieuwe situatie?

Zijn er *a priori* hypothesen te formuleren over de veranderingen in de hersenen?

Het verhogen van de *workload* als een manier om slaapdeprivatie te induceren: in hoever zijn de waargenomen effecten op het EEG/EMG specifiek voor chronische slaapdeprivatie en niet voor metabole of andere aanpassingen? Zijn er geen controles hiervoor nodig?

- Datum antwoord: **27-11-2015**

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

10. Advies van IvD

- Datum advies IvD: **17-09-2015**
- Strekking advies IvD (*zie opmerking toelichtingsdocument*)

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is.

Ja, het project is vergunningplichtig

Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies

2. **De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.**
3. Is de DEC competent om hierover te adviseren? **Ja**
4. Zijn DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies? **Nee.**

C. Beoordeling (inhoud):

1. Is de aanvraag een toetsbare eenheid? Leg uit waarom wel/niet. Geef hierbij ook aan of 1) de aanvraag als programma of project getypeerd wordt (Een programma omvat meerdere projecten en heeft een hoger gelegen doel, terwijl een project een concrete onderzoeksvraag heeft met in principe één concrete doelstelling en een helder geformuleerd resultaat), 2) het project coherent is, waarbij alle dierexperimenten logisch samenhangen en nodig zijn om het beoogde concrete resultaat te bereiken en 3) alle stappen in het project voldoende zijn uitgewerkt en geen onzekerheden bevatten, die voor de ethische toetsing relevant zouden kunnen zijn.

Ja, de aanvraag kan als een toetsbare eenheid worden beschouwd:

het gaat om onderzoek aan drie diersoorten die als samenhangend doel hebben slaap in andere dan rodent species te begrijpen en daarmee kennis te vergroten over slaap *per se* en de extrapoleerbaarheid van gegevens. De aanvraag heeft het karakter van een project waarin drie afzonderlijke en goed beschreven onderzoeksvragen in drie diersoorten tezamen een beeld geven van slaap. (zie opmerking toelichtingsdocument)

2. Zijn er aspecten in deze aanvraag die niet in overeenstemming zijn met wet- en regelgeving anders dan de Wod, zoals bijvoorbeeld de Flora en fauna wet en Wet dieren? Indien van toepassing, leg uit waarom.

Nee

3. Is/zijn de in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en)?

JA

Belangen en waarden

4. Wat is het motiverende doel van het project? (Zie ETK, Doeleinden project pag. 2).

Het betreft fundamenteel onderzoek.

5. Wat is het effect van het onderzoek op het welzijn van mens, dier en omgeving en wetenschappelijke kennis (zie tabel 1 van het ETK)?

Het project beoogt wetenschappelijk kennis over slaap te vergroten wat uiteindelijk ook toepasbaar kan zijn voor het beter begrijpen van slaap bij mensen

6. Worden de belangen van dieren, consumenten, burgers en omgeving (in termen van waarden) voldoende beschreven of zijn er overige belangen die voor de toetsing relevant zijn (zie tabel 2 van het ETK)? Specificeer de belangrijkste belanghebbenden (kwalitatief en kwantitatief).

Ja, er wordt voldoende beschreven waarom dieren worden gebruikt en hoe het welzijn van de dieren wordt geborgd en ongerief/pijn wordt voorkomen. (zie opmerking toelichtingsdocument)

7. Benoem de waarden die in het geding zijn voor de belangrijkste belanghebbenden.

Proefdieren: welzijn, autonomie en rechtvaardigheid

Onderzoekers: autonomie

8. Is er sprake van belangwekkende milieueffecten? Zo ja, leg uit waarom.

NEE

Proefopzet en haalbaarheid

9. Is het project goed opgezet? Leg uit waarom wel/niet.

Ja, de experimenten volgen de in slaaponderzoek gangbare manieren en technieken.

10. Zijn kennis en kunde van onderzoekers en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd? Licht toe waar dit uit blijkt?

Ja, de onderzoekers en (bio)technici hebben een trackrecord in dit slaaponderzoek. Nieuwe medewerkers worden door bekwame personen opgeleid.

11. Kan de gekozen strategie en experimentele aanpak leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project (*Zie ETK, Haalbaarheid pag. 4*)? Leg uit waarom wel/niet.

Ja, op deze wijze zal kennis over slaap en extrapoleerbaarheid worden verkregen.

Welzijn dieren

12. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Geef aan of en waarom de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk onderbouwd is.

De onderzoekers gebruiken tree-shrews, spreeuwen en kauwen. Ten aanzien van de kauwen is goed beschreven wat de reden is voor de keuze van deze soort. De spreeuw is wildvang. (zie opmerking toelichtingsdocument)

Hieronder de tabel bijzonderheden

- ☐ Bedreigde diersoort(en) (10.e.4)
- ☐ Niet-menselijke primaten (10.e)
- ☒ **Dieren in/uit het wild (10.f)**
- ☐ Gefokt voor dierproeven (11)
- ☐ Zwerfdieren (10.h)
- ☐ Hergebruik (1.e.2)
- ☐ Huisvesting en verzorging
- ☐ Locatie: instelling vergunninghouder (10.g)
- ☐ Toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)

- ☐ Dodingsmethode (13.c.3)

13. Is de kwaliteit van de huisvesting en verzorging volgens bijlage III van de richtlijn? Wordt de kwaliteit van de huisvesting en verzorging, indien afwijkend van bijlage III, voldoende geborgd? Leg uit waarom wel/niet.

De dieren worden gehuisvest volgens de richtlijnen. (zie opmerking toelichtingsdocument)

14. Is het ongerief als gevolg van de dierproeven realistisch ingeschat en geclassificeerd? Leg uit waarom wel/niet.

Ja, dit is realistisch ingeschat.

15. Is er sprake van integriteitsaantasting? Leg uit waarom wel/niet (Zie ETK, Waarden, pag. 4).

Ja. Als een dierproef meer dan een injectie door een dierenarts behelst is per definitie de integriteit (van in ieder geval weefsels) aangetast. *(zie opmerking toelichtingsdocument)*

3V's

17. Heeft de aanvrager een overzicht gegeven van alle potentiële vervangingsalternatieven en heeft de aanvrager daar een gemotiveerde keuze in gemaakt? Onderschrijft de DEC deze keuze? Leg uit waarom wel/niet *(Zie ETK, subsidiariteit, pag. 4)*.

Ja, slaap onderzoek kan alleen in levende organismen worden gedaan *(zie opmerking toelichtingsdocument)*

18. Is het aantal te gebruiken dieren realistisch ingeschat? Is er een heldere strategie om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Leg uit waarom wel/niet *(Zie ETK, subsidiariteit, pag. 4)*.

Ja, het aantal dieren is beperkt tot wat wetenschappelijk kan worden verantwoord. *(zie opmerking toelichtingsdocument)*

19. Is het project in overeenstemming met de vereiste van verfijning van dierproeven en is het project zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd? Leg uit waarom wel/niet *(Zie ETK, subsidiariteit, pag. 4)*.

Ja, experimenten worden zodanig gedaan dat ongerief tot een minimum wordt beperkt.

20. Zijn er redenen om aan te nemen dat, bij wettelijk vereist onderzoek, duplicatie plaats vindt? Zo ja, licht dit toe.

a. Beschikt de aanvrager over voldoende expertise en informatie om tijdens het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt? Leg uit waarom wel/niet.

NVT

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

21. Worden dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet? Zo nee, is daarvoor een actuele wetenschappelijke onderbouwing? Welke maatregelen zijn verder getroffen om bij fok of aankoop van dieren het aantal in voorraad gedood te beperken (*Zie ETK, proportionaliteit en voorzorg, pag. 4*)?

Ja, beide seksen worden gebuikt.

22. Worden dieren gedood in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef)? Is dit noodzakelijk en wordt een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt (*Zie ETK, proportionaliteit en voorzorg, pag. 3*)? Licht dit toe.

Ja, er worden moleculaire analyses gedaan op hersenstructuren. Hiertoe worden de daartoe geëigende en geschikte dodingsmethoden gebruikt.

23. Indien dieren worden gedood, is adoptie of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is (*Zie ETK, proportionaliteit en voorzorg, pag. 3*).

Dit is niet mogelijk ivm analyses (zie boven)

NTS

24. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?

JA

D. Ethische afweging

1. Benoemen de centraal morele vraag (*Zie ETK, Probleem definiëren, pag. 9*).

Het verkrijgen van meer kennis over slaap rechtvaardigt het gebruik van dieren en het mogelijk ongerief dat wordt aangedaan

2. Weeg voor de ethische afweging de waarden van de verschillende belanghebbenden zoals beschreven in C ten opzichte van elkaar af. Onderbouw dit met moreel relevante feiten (*Zie ETK, Waarden, pag. 4 en Weging moreel relevante argumenten, pag. 11*).

Autonomie van onderzoek aan de kant van de onderzoeker; welzijn, autonomie en rechtvaardigheid aan de kant van het dier.

3. Beantwoord de centraal morele vraag, gebruik makend van bovenstaande afweging. Motiveer de afweging, zodanig dat deze navolgbaar is zonder gedetailleerde kennis te hebben van het projectvoorstel.

Onderzoek naar slaap buiten de mens als proefpersoon en buiten rodents die veel gebruikt zijn, is nodig om de functie en evolutie van slaap in brede zin te begrijpen. Onderzoek aan slaap bij mensen is zeer beperkt in zijn mogelijkheden van het begrijpen van moleculaire processen onderliggend/gekoppeld aan slaap. Het gebruik van de diersoorten zoals hier benoemd is daarom te rechtvaardigen. Hoewel de dieren worden geschaad in hun belangen (immers ze ervaren bijvoorbeeld ongerief door de procedures) is dit door de onderzoekers beperkt en weegt dit op tegen het belang van het onderzoek.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

☒ **X De DEC adviseert de vergunning te verlenen.**

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus of op een meerderheids-minderheidsstandpunt. Specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn (*Zie ETK, Advies pag. 12*).

CONSENSUS

3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (*Zie ETK, Proportionaliteit en voorzorg pag. 3, Subsidiariteit pag. 4, Dilemma's pag. 8 en Advies pag. 12*).

Indien van toepassing zullen dergelijke aspecten onder D3 worden verwerkt.

[REDACTED]

Van: Info-zbo
Verzonden: dinsdag 2 februari 2016 9:43
Aan: [REDACTED]
CC: [REDACTED]
Onderwerp: Beschikking AVD105002015359
Bijlagen: Beschikking 359.pdf

Geachte heer, mevrouw,

Deze beschikking is ook per post verzonden.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven www.centralecommissiedierproeven.nl
Nationaal Comité advies dierproevenbeleid www.ncadierproevenbeleid.nl

.....
Bezuidenhoutseweg 73 | 2594 AC | Den Haag Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag
.....

Van: Info-zbo
Verzonden: dinsdag 2 februari 2016 15:02
Aan: [REDACTED]
Onderwerp: terugkoppeling besluit op aanvraag AVD105002015359

Geachte DEC,

Enige tijd geleden heeft u advies uitgebracht op een aanvraag voor een projectvergunning met titel 'Comparative studies on the regulation of sleep and the consequences of sleep loss' en aanvraagnummer AVD105002015359, uw kenmerk: 9003. Op 14 januari 2016 heeft u uw advies aangevuld met het antwoord van de aanvrager op uw vragen. Wij danken u voor uw advies, en koppelen graag het oordeel van de CCD over deze aanvraag aan u terug.

De CCD heeft nog de volgende vragen aan de aanvrager gesteld:

- In het projectvoorstel bijlage van uw aanvraag beschrijft u verschillende proeven met tupaia, spreeuwen en kauwen. Heeft u go/no-go of beslismomenten in uw opzet opgenomen? U wordt verzocht in het kader van vermindering go/no-go momenten vast te stellen (zowel bij de start van een dierproef, tussen de behandelingen binnen een proef, als tussen de verschillende dierproeven), de criteria te beschrijven op welke wijze bepaald zal worden of wel/niet met een dierproef gestart gaat worden.
- U schrijft in uw aanvraag tupaia, spreeuwen en kauwen te willen gebruiken. Het is voor ons niet duidelijk op welk moment van de dag worden de testen uitgevoerd (24 uur, alleen over dag/'s nachts). Vooral in het geval van slaapttekort is het belangrijk in het kader van haalbaarheid van de doelstelling om te weten of de dieren doorlopend gemonitord zijn, en of het slaapttekort over dag en 's nachts plaatsvindt en wordt getest. Aangezien uw onderzoek gericht is op slaap patronen en homeostase, kan het moment van het testen van de dieren een grote invloed hebben op de resultaten. We verzoeken u om dit punt uit te werken.
- Waarom is het gekozen om de proeven met wilde kauwen uit te voeren? Indien dieren uit het wild in proeven worden gebruikt, is er een onderbouwde motivatie vereist.
- Hoe worden de wilde vogels gevangen en is het ongerief van het vangen meegerekend in de inschatting van het ongerief in uw aanvraag? Indien dieren uit het wild in proeven worden gebruikt is de aanwezigheid van deze informatie vereist.

De aanvrager heeft naar tevredenheid gereageerd.

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

We hopen u op deze wijze voldoende geïnformeerd te hebben.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven www.centralecommissiedierproeven.nl

Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl