

Inventaris Wob-verzoek W16-13S									
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	<b>NTS2016427</b>								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel				x		x	x	
3	Niet-technische samenvatting	x							
4	Bijlage beschrijving dierproeven 1				x		x	x	
5	Bijlage beschrijving dierproeven 2				x		x	x	
6	DEC-advies oud				x		x	x	
7	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
8	DEC-advies herzien				x		x	x	
9	Advies CCD		x						x
10	Beschikking en vergunning				x		x	x	
11	Mail terugkoppeling DEC 5-4-2016				x		x	x	

AVD 10500 2016 427



22 MAART 2016

## Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

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

### 1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in 10500 <input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen															
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table><tr><td>Naam instelling of organisatie</td><td>Rijksuniversiteit Groningen</td></tr><tr><td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td><td>[REDACTED]</td></tr><tr><td>KvK-nummer</td><td>1 1 7 9 0 3 7</td></tr></table>	Naam instelling of organisatie	Rijksuniversiteit Groningen	Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]	KvK-nummer	1 1 7 9 0 3 7									
Naam instelling of organisatie	Rijksuniversiteit Groningen																
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]																
KvK-nummer	1 1 7 9 0 3 7																
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	<table><tr><td>Straat en huisnummer</td><td>A, Deusinglaan 1, [REDACTED]</td></tr><tr><td>Postbus</td><td></td></tr><tr><td>Postcode en plaats</td><td>9713AV GRONINGEN</td></tr><tr><td>IBAN</td><td>NL80ABNA0446049352</td></tr><tr><td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td><td>Rijksuniversiteit Groningen</td></tr></table>	Straat en huisnummer	A, Deusinglaan 1, [REDACTED]	Postbus		Postcode en plaats	9713AV GRONINGEN	IBAN	NL80ABNA0446049352	Tenaamstelling van het rekeningnummer	Rijksuniversiteit Groningen					
Straat en huisnummer	A, Deusinglaan 1, [REDACTED]																
Postbus																	
Postcode en plaats	9713AV GRONINGEN																
IBAN	NL80ABNA0446049352																
Tenaamstelling van het rekeningnummer	Rijksuniversiteit Groningen																
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td>[REDACTED]</td><td><input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.	Functie	[REDACTED]		Afdeling	[REDACTED]		Telefoonnummer	[REDACTED]		E-mailadres	[REDACTED]	
(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.															
Functie	[REDACTED]																
Afdeling	[REDACTED]																
Telefoonnummer	[REDACTED]																
E-mailadres	[REDACTED]																
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td>[REDACTED]</td><td><input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.	Functie	[REDACTED]		Afdeling	[REDACTED]		Telefoonnummer	[REDACTED]		E-mailadres	[REDACTED]	
(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.															
Functie	[REDACTED]																
Afdeling	[REDACTED]																
Telefoonnummer	[REDACTED]																
E-mailadres	[REDACTED]																

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

## 2 Over uw aanvraag

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

## 3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- |            |                     |
|------------|---------------------|
| Startdatum | 0 1 _ 0 4 _ 2 0 1 6 |
| Einddatum  | 0 1 _ 0 4 _ 2 0 2 1 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- |   |  |
|---|--|
| Brain protective strategies using hibernation and hibernation-derived |  |
|---|--|
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- |   |
|---|
| Preventie van de ziekte van Alzheimer door winterslaap en winterslaap-afgeleide stoffen |
|---|
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- |             |                      |
|-------------|----------------------|
| Naam DEC    | DEC-RUG              |
| Postadres   | A. Deusinglaan 1,    |
| E-mailadres | secrdec.umcg@umcg.nl |

## 4 Betaalgegevens

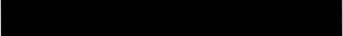
- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?
- Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1.187,00 Lege
- Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
- Via een eenmalige incasso
- Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het 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
- 2 appendices

## 6 Ondertekening

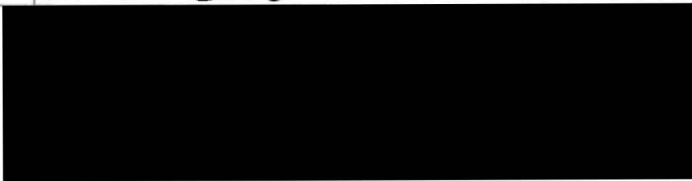
- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:
- Centrale Commissie  
Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag
- Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.6). De ondergetekende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

Naam 

Functie 

Plaats Groningen

Datum 21-03-2016

Handtekening 





## Melding

### Bijlagen via de post

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

### 1 Uw gegevens

1.1 Vul de gegevens in.

Naam aanvrager | Rijksuniversiteit Groningen  
Postcode | 9713 AV | Huisnummer | 1

1.2 Bij welke aanvraag hoort de bijlage?

*Het aanvraagnummer staat in de brief of de ontvangstbevestiging.*

Aanvraagnummer | AVD 10500 ~~16447~~ 2016 427

### 2 Bijlagen

2.1 Welke bijlagen stuurt u mee?

*Vul de naam of omschrijving van de bijlage in.*

Aanvraag projectvergunning

### 3 Ondertekening

3.1 Ondertekenen het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:

Naam |   
Datum | 21-3-2016  
Handtekening | 

Centrale Commissie  
Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag





## Form Project proposal

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

### 1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment.
- 1.3 Provide the title of the project.

### 2 Categories

- 2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project.
- Basic research
- Translational or applied research
- Regulatory use or routine production
- Research into environmental protection in the interest of human or animal health or welfare
- Research aimed at preserving the species subjected to procedures
- Higher education or training
- Forensic enquiries



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

---

### 3 General description of the project

#### 3.1 Background

---

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

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

Motivation:

Alzheimer's disease is one of the most prevalent chronic neurodegenerative diseases, characterized by memory loss, and disturbances of speech, visiospatial function, planning and judgment. Although the course of Alzheimer's may vary, life expectancy is dramatically reduced compared to healthy peers. Apart from loss of neurons, [REDACTED], [REDACTED], inflammation, oxidative stress and finally loss of neurons. [REDACTED] causes disintegration of the microtubule network leading to a collapse [REDACTED]. Despite major research efforts, underlying [REDACTED] processes still remain elusive, and therapy is mainly symptomatic.

The current project investigates the therapeutic potential of hibernation itself and hibernation-derived [REDACTED] in Alzheimer's disease. As hibernation consists of multiple protective processes, we investigate in appendix 1 the broad question whether natural hibernation restricts progression of Alzheimer's disease. In the second project (appendix 2) we focus on one of the major protective mechanisms in hibernation by [REDACTED]

Context:

Hibernators survive without organ damage at the extremes of physiology. Our research group is investigating the mechanisms of hibernation to understand the adaptive mechanisms involved, and to identify key regulatory targets that may be used to develop novel therapeutic strategies which may be employed in non-hibernating species. In the past years, we have investigated [REDACTED], and identified immunosuppressive mechanisms and the importance of [REDACTED] to alleviate oxidative and organ damage. By activating these protective pathways, hibernation itself may thus convey protective effects in conditions that are characterized by inflammation and/or oxidative stress. Moreover, based on the mechanism used by hibernators [REDACTED] we have developed drugs ([REDACTED]) that preserve these pathways in conditions of inflammation and/or oxidative stress, both in cell cultures, in the whole body cooling and in cooling and rewarming in rat and type 2 diabetes in the mouse.

*Hibernators repair organ damage during arousals*

The key to hibernation is a substantial suppression of [REDACTED] of normal, which subsequently results in [REDACTED]. Rather, periods of [REDACTED], which last < 24h. Nevertheless, molecular markers and immunohistochemistry show that organ damage does develop [REDACTED]. Remarkably, this damage is fully reversed during [REDACTED]. Consequently, many believe that hibernators encompass highly effective repair mechanisms allowing them to completely clear cell or organ damage during [REDACTED]. Interestingly, hibernating animals show extensive [REDACTED] and have the extraordinary ability to maintain [REDACTED] architecture and function despite [REDACTED]

Interestingly, recent observations indicate a decreased [REDACTED]

[REDACTED] H<sub>2</sub>S has furthermore been implicated in the regulation of [REDACTED]

extracellular matrix throughout the hibernating body. Interestingly, reducing [REDACTED]. We have observed [REDACTED] to counteract protein [REDACTED]. Thus, [REDACTED] and [REDACTED]. In hibernation, [REDACTED] is characterized by the upregulation of [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED]. Finally, [REDACTED] is regarded in general as a state with highly efficient repair of organ damage, including [REDACTED]. Consequently, we hypothesize that natural hibernation will prevent or slow down progression of Alzheimer's disease. Collaboration partners on the project, [REDACTED], have extensively characterized [REDACTED].

#### *[REDACTED] offer protection against oxidative damage in various diseases*

Adequate coping with oxidative stress is an important factor in determining lifespan and health span. Boosting a subject's anti-oxidant defense promotes longevity and mitigates disease progression in highly prevalent conditions including cancer, diabetes and cardiovascular, neurologic and renal diseases in the experimental setting [14] and may substantially slow down development of Alzheimer's disease. Disappointingly, in humans, oral administration of anti-oxidants is generally ineffective to substantially prolong life or slow down disease progression [15]. Main reasons are thought to include the pro-oxidative action of high doses of antioxidants through the Fenton reaction (see for review [16]) and inadequate tissue penetration. Thus, novel strategies providing an effective [REDACTED] effect are warranted. We recently disclosed a novel anti-oxidant mechanism to attenuate cellular damage in a hibernator [REDACTED]: [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED] [3,17,18]. We further found that the [REDACTED] is strongly activated by [REDACTED]. Administration of both compounds provides organ protection in [REDACTED] [REDACTED] [19]. Also, we have demonstrated that the [REDACTED] is downregulated in a number of chronic disease conditions [REDACTED]. A tight control of the [REDACTED] is coherent with recent studies in which [REDACTED] as a [REDACTED] with potent anti-oxidative properties and cellular protective actions [REDACTED]. Of note is that the currently identified [REDACTED], are not suited for clinical use because of anticipated side-effects due to [REDACTED]. Thus, we initiated the development of new chemical entities, [REDACTED], which by now have proven to protect from oxidative damage in a variety of cells [REDACTED]. These [REDACTED], mimic the effects of [REDACTED] on mitochondria and increase ATP-production by mitochondria, while precluding the production of ROS. Moreover, these compounds –like [REDACTED]– preserve expression of [REDACTED] under these conditions. [REDACTED] in Alzheimer's disease.

### 3.2 Purpose

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

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

The main objective of the project is to explore the effectiveness of hibernation and [REDACTED] of Alzheimer's disease. In this project we (1) explore whether hibernation can be used as an interventional strategy to limit organ damage by studying disease progression in hibernating Alzheimer's disease mouse models, (2) test the efficacy of [REDACTED] to protect from Alzheimer's disease and (3) investigate the relevance of the [REDACTED] pathway herein.

This purpose is achievable as we have employed the animal models previously and relevant analysis procedures are available.

Aim 1: Repair of organ damage [REDACTED]

[REDACTED] in Alzheimer's disease. Hence Alzheimer's disease models constitute a rational choice to explore possible beneficial effects of hibernation on the disease. We have 2 models of [REDACTED] operational in the mouse, [REDACTED] in order to explore the benefit of regular hibernation in short-term and long-term experiments. Using hibernation as a model in mice enables the use of genetic models of disease. The use of [REDACTED] mice, continuous measurement of [REDACTED] of the mice and variation of [REDACTED] enables matching of hibernating animals to adequate control groups.

Aim 2: compounds appeared effective and were well tolerated in other disease models. We have recently tested one of the [REDACTED]. Intravenous administration of the compound for 4 h in rat and s.c. infusion for 8 weeks in [REDACTED] mouse proved both efficacious in reducing organ damage ([REDACTED]), without any adverse effects. Thus, it seems highly feasible to test the compound in other disease models.

Aim 3: we have recently generated a [REDACTED] knock-out mouse, in which deletion of the [REDACTED] gene may be accomplished in a time and tissue specific manner after crossing with the appropriate Cre-mice (conditional knock-out). Moreover, an even more extensive disruption of [REDACTED] may be accomplished by crossing the [REDACTED] knock-out mice with mice knock-out for additional enzymes, [REDACTED]. Experiments outlined under aim 1 and 2 are also performed in conditional CBS KO mice and crossings, thus enabling dissecting of the importance of [REDACTED] synthesis in the [REDACTED] of Alzheimer's disease and in the mechanism of action of both interventions.

---

### 3.3 Relevance

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

Societal relevance:

This project will generate data on the efficaciousness of a novel class of drugs, with potentially high impact in a major disabling disease prevalent in an aging population. Moreover, this project will investigate the highly promising field of [REDACTED] targets for the treatment of Alzheimer's Disease. And it will furthermore engage MD/PhD students, thus familiarizing future clinicians with cutting edge preclinical research.

Scientific impact:

This work will test the novel concept of exploiting the repair function of hibernation in Alzheimer's disease. Further, it will generate scientific data on the action of a novel class of drugs and deepen our understanding of the role of (derailed) mitochondrial function in Alzheimer's diseases. Finally, it will give us more insight in the process of hibernation itself.

---

### 3.4 Research strategy

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

We employ mouse as the experimental animal of choice in this project. First, relevant Alzheimer's disease [REDACTED] and an extensive molecular toolbox are available to explore progression of disease. We propose to employ [REDACTED] the generalizability of results. Secondly, mice are [REDACTED] and we have the expertise to [REDACTED] in mice both in short-term and long-term protocols. Thirdly, we obtained data on pharmacokinetics of the [REDACTED] in mice, allowing the design of optimal dosing protocols.

This project thus encompasses three major animal experimental activities:

- (i) Hibernation experiments in Alzheimer's disease mouse models. Here we test a complete novel concept to use hibernation as a strategy to limit disease progression.
- (ii) Pharmacological intervention studies with [REDACTED] in Alzheimer's disease mouse models.
- (iii) Experiments outlined under 1 and 2 in [REDACTED] knock-out animals and mice knock-out for [REDACTED] production.

Analysis of these experiments will be on the level of the (patho)physiology of the whole animal and/or on the biochemical, molecular, electrophysiological and histological level in sampled blood and organ tissue.

---

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

---

Animal models constitute neurodegenerative disease models of Alzheimer's disease, i.e. nucleus basalis (NB) lesion model, J20 model and APP/PS1 model.

- (i) Hibernation experiments in Alzheimer's disease mouse models. Initial experiments explore the potential benefit of a limited number of [REDACTED] cycles by studying histochemical and molecular markers of the disease (e.g. [REDACTED]). Further experiments will be directed at demonstrating the long-term benefit of hibernation on disease progression and include [REDACTED] tests and testing of [REDACTED] in addition to histochemical and molecular markers.
- (ii) Pharmacological intervention studies in Alzheimer's disease mouse models. Initial experiments, conducted under [REDACTED], consist of a comparison of i.v. injection with oral administration of selected compounds. Based on preliminary data, we expect that oral administration may be employed in all long-term studies. The interventional studies will employ chromanol-based compounds for which pharmacokinetics in mouse are known. [REDACTED] more slowly are used as positive control.
- (iii) Hibernation experiments and pharmacological intervention studies in Alzheimer's disease mouse models knock-out for [REDACTED] or other genes. Based upon results from the prior experiments, additional experiments are foreseen, aiming to unravel or confirm molecular mechanisms involved, by examining the efficacy of hibernation and different compounds in mouse models that are (conditionally) knock-out for one or more of the [REDACTED] and/or other genes.

In addition to [REDACTED], molecular, biochemical and histochemical analyses will be used to identify mechanisms and assess the efficacy of interventions in these animal studies.

---

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

---

The project seeks to alleviate progression of Alzheimer's disease by [REDACTED]. Moreover, the project explores the role of [REDACTED] or other signaling pathways herein.

Ideally, the course of the project takes maximum profit of prior experiments. The preferred project is built up is listed below. However, there are no strict go/no-go decisions in terms of halting the project, but rather the optimal next step is defined. In that sense, accomplishments rather represent milestones and are defined as such below.

Phasing:

1) characterization of molecular changes in [REDACTED] induced by [REDACTED].

a) Controls: compare protein expression in different time points throughout [REDACTED]

b) Controls: compare [REDACTED] & identify optimal [REDACTED]

Milestone 1: optimal [REDACTED]

c) Examine [REDACTED] using optimal protocol as protein expression methods are available

d) Examine controls and [REDACTED] at additional stages of ageing

e) Examine [REDACTED] and at different ages

Milestone 2: molecular changes by hibernation in control and Alzheimer

2) [REDACTED] testing in [REDACTED]).

a) If 1 fails: Conducting this protocol is of interest even if [REDACTED] fails, as this model introduces [REDACTED].

b) If 1 succeeds: the best model will be used

Milestone 3: effectiveness of hibernation in limiting Alzheimer's

1) Testing of compounds in Alzheimer's

a) [REDACTED]

Milestone 4: optimal treatment protocol with compounds

b) [REDACTED], different timepoints

c) [REDACTED], different timepoints

Milestone 5: effectiveness of [REDACTED]

3) Testing of knock-outs on Alzheimer development and/or efficacy of hibernation/compounds

a) If both hibernation and compounds fail: genetic boosting of [REDACTED] will be examined together with knock-outs

b) If either or both succeed: investigate as planned in optimal model

Milestone 6: involvement of [REDACTED]

c) If auxiliary [REDACTED] emerge in the mean time: examine Alzheimer development and/or efficacy of hibernation/compounds in appropriate knock-outs

Milestone 7: involvement of auxiliary pathways

As we have already identified efficacious compounds, experiments [REDACTED]

independent and constitute the initial phase of the project and hence both marked as 1). In the phase 3 of the project, the development of Alzheimer's disease [redacted] will be examined. Subsequently, the influence of conditional knock-out on the therapeutic effect of hibernation will be examined.

Adding up the number of animals requested in all appendices, the total project comprises 4066 mice. However, it seems unlikely this amount will ultimately be needed as these numbers represent the grand total should all conditions be examined. We expect major parts of specific project to benefit considerably from others to limit e.g. by identifying the optimal [redacted].

Specific synergies that are present in this project constitute:

Appendix 1 and 2 address Alzheimer's disease; here we expect the analysis of the [redacted]

#### Reference List

1. [redacted]
2. [redacted]
3. [redacted]
4. [redacted]
5. [redacted]
6. [redacted]
7. [redacted]
8. [redacted]
9. [redacted]
10. [redacted]
11. [redacted]
12. [redacted]
13. [redacted]



14. [Redacted]
15. [Redacted]
16. [Redacted]
17. [Redacted]
18. [Redacted]
19. [Redacted]
20. [Redacted]
21. [Redacted]
22. [Redacted]
23. [Redacted]
24. [Redacted]

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

Serial number	Type of animal procedure
1	Effectiveness of hibernation in mouse Alzheimer's disease models
2	Effectiveness of [Redacted] mouse Alzheimer's disease models

## Appendix

### Description animal procedures

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

#### 1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	10500	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Rijksuniversiteit Groningen	
1.3	List the serial number and type of animal procedure.	Serial number	Type of animal procedure
		1	Effectiveness of hibernation in mouse Alzheimer's disease

*Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.*

#### 2 Description of animal procedures

##### A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

Alzheimer's disease is one of the most prevalent chronic neurodegenerative diseases, characterized by memory loss, and disturbances of speech, visiospatial function, planning and judgment. Apart from [REDACTED], the disease features two important [REDACTED] characteristics: [REDACTED], inflammation, oxidative stress and finally loss of [REDACTED]. Despite major research efforts, underlying neurobiological processes still remain elusive, and therapy is mainly symptomatic.

In this appendix, we explore whether natural hibernation will prevent or slow down progression of Alzheimer's disease. Collaboration partners on the project, [REDACTED] protein expression[1,2].

In this appendix, two mouse Alzheimer's models will be used:

- [REDACTED]
- [REDACTED]

These mouse models have been used before in our institution, using both the analysis of [REDACTED] and molecular analysis.

We have 2 models of [REDACTED] in short-term and long-term experiments, respectively. The use of [REDACTED] of hibernating animals to adequate control groups.

We divided the project in 3 phases:

Phase 1: we employ [REDACTED] as a logistically easy, cheap and rapid method to check the proof of concept of [REDACTED] Alzheimer's brain. [REDACTED] changes in control and

Alzheimer's mice of different age.

Phase 2: experiments are refined by including the [REDACTED] aspects by applying different [REDACTED], in addition to the collection of [REDACTED] material.

Because [REDACTED] needs to be induced for a longer time period, for which the [REDACTED] is more fitting.

Phase 3: relevant experiments are repeated in mice conditionally knocked-out for [REDACTED] [REDACTED].

Primary outcome measures constitute of well known parameters to quantify Alzheimer's disease in mice:

- [REDACTED]
- [REDACTED]
- [REDACTED]
- [REDACTED]
- [REDACTED]

#### Reference List

1. [REDACTED]
2. [REDACTED]
3. [REDACTED]

4.  
5.  
6.  
7.  
8.  
9.  
10.  
11.  
12.

---

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

---

Alzheimer models:

Two transgenic models are employed to increase generalizability of findings as they represent two distinct [REDACTED]. Furthermore, both models are affected differently on the d [REDACTED]

- [REDACTED]
- [REDACTED]

All models are operational in our facilities with appropriate conditions and expert technical knowledge and skills available to examine behavioral, molecular and (immuno)histochemical effects.

Induction of hibernation:

Two methods are used, i.e. overnight fasting and working for food:

[REDACTED]

[REDACTED]

Surgery for [REDACTED]

A [REDACTED] at least a week before start of the protocol under isoflurane anesthesia.

Euthanization of mice:

Animals for molecular [REDACTED] analyses are sacrificed by cervical dislocation without anesthesia, followed by [REDACTED] and subsequent harvesting of other organs. Cervical dislocation is the preferred method as (1) anesthesia affects [REDACTED]

[REDACTED] (2) induction of anesthesia inevitably produces considerable stress (both by smelling of the volatile anesthetic and in the following excitation phase), which releases stress hormones also influencing [REDACTED] [8,9]). In addition, the group of mice that will be used to study [REDACTED]

[REDACTED] measurements suggest that animal welfare is unaffected by euthanization [REDACTED] [10]. Animals will be handled regularly throughout the protocol to [REDACTED]

[REDACTED].

Mice that will be used for immuno-histochemical analyses will be perfused with 10% PFA under full isoflurane anesthesia. Since proper immuno-histochemical analyses is only possible when [REDACTED] are perfused and the planned immuno-histochemical analyses are not affected highly by modulation of [REDACTED] these mice will be anesthetized.

Behavioral tests:

[REDACTED]:  
The mice will be [REDACTED]

Two of the below listed behavioral tests (depending on the model and initial results in [REDACTED]) are performed to [REDACTED]

[REDACTED]: Mice are placed [REDACTED]

[REDACTED]: Before testing, [REDACTED]

[REDACTED]

. This is followed by

#### Immunohistochemical analyses:

Four out of ten animals from the groups will be sacrificed for immunohistochemical analyses of . For proper immunohistochemical analyses perfusion of the mice . Mice will be fully anesthetized and perfused with 10% PFA.

#### Proteomics:

For proteomic analyses from 6 out of 10 animals will be used.

#### Experimental setup and planning:

Animals are randomly allocated to groups undergoing hibernation and control groups.

In phase I experiments consist of the analysis of reversal of molecular features of Alzheimer's brain in mice

. Control animals receive a as these mice, but the

The following groups are studied:

- a. Molecular markers measured by immunohistochemistry (IHC; anesthetized perfused animals). Initial experiments will be conducted only if no changes are observed, will be tested. This results in 2 models x x 6 animals x 2 groups (both hibernating and control animals) = 72 animals. At the will also be acquired from hibernating animals and time matched controls during requiring 2 additional timepoints x 2 models x 6 animals = 24 animals. Total amounts 96 animals.
- b. Proteomics analysis (. Similar groups will be included, at the optimal from part a. at an n=8 since statistical power is lower in proteomic analyses. Thus, this amounts 2 models x 8 animals x 2 groups (both hibernating and control animals) = 32. Moreover samples are also obtained during in the optimal model = 2 timepoints x 8 animals x 1 model = 16 animals. Total is 48 animals.
- c. ). Testing will be performed at the most optimal and the most optimal model only (a & b) and thus requires 1 model x 12 animals x 2 groups = 24 animals. In addition samples from require 2 timepoints x 12 animals = 24 animals. Total is 48 animals.
- d. Mice of different age / stage of Alzheimer's. Experiments from a to c provide and differences between of Alzheimer's mouse models of age 3 months. To explore hibernation effects at different stages of Alzheimer's, experiments are performed at 2 later timepoints (4.5 and 6 months of age) in the most optimal model. This requires 2 ages x 1 model x (3 techniques: 6 (IHC) + 8 (proteomic analyses) + 12 =26) animals x 2 groups = 104 animals.

Phase I thus comprises of 296 animals of which 148 are .

In phase II, the effect of longer-term and molecular changes is tested employing the model. Initial experiments will

be conducted [redacted] only if no changes are observed, [redacted] will also be tested. Should a major [redacted] exist, [redacted] will be tested as well. Per Alzheimer's model, 2 interventions are studied, i.e. where [redacted] prior to and after development of [redacted] month old animals, respectively). In addition to [redacted] groups are included: (i) yoked controls adjusted in [redacted] level) and (ii) animals [redacted] conditions not showing [redacted]. The following groups are studied:

- a. [redacted] A complete protocol of all variables mentioned would require 2 experiments (before, after [redacted]) x 2 models x 2 temperatures x 3 stages of Alzheimer's x 12 animals x 3 groups ([redacted] and 2 controls) = 864 animals. (Only when no clear differences are found, 2 extra [redacted] need to be examined: 864 additional animals)
- b. Proteomics analysis ([redacted]). Derived from a., here we will include the best model at the [redacted] and optimal time of testing. This requires 2 interventions x 1 model x 1 temperature x 1 stage of Alzheimer's x 8 animals x 3 groups ([redacted] and 2 controls)= 48 animals.
- c. Molecular markers, affected by [redacted], measured by immunohistochemistry (IHC; anesthetized perfused animals). Derived from a., here we will include the best model at the optimal temperature and optimal time of testing. This requires 2 interventions x 1 model x 1 temperature x 1 stage of Alzheimer's x 6 animals x 3 groups = 36 animals.
- d. [redacted] are examined in a similar group as b. at an n=12, thus requiring 2 interventions x 1 model x [redacted] x 1 stage of Alzheimer's x 12 animals x 3 groups ([redacted] and 2 controls)= 72 animals.
- e. If hibernation mitigates Alzheimer's disease, we would want to obtain samples reflecting the (molecular) transition from [redacted]. To this end, we will obtain 15 samples from the optimal model at [redacted] on the [redacted], monitored by [redacted]. Animals need to be euthanized both to obtain [redacted]. Thus: 1 model x 2 collection methods x 15 = 30 animals.

In total, phase II requires 1050 animals of which 370 are [redacted] (or 1914 when testing at extra temperatures is necessary of which 710 [redacted].

In phase III, mice conditionally knock-out for [redacted] [redacted] will be examined. We anticipate 8 groups to be tested: 3 strains of conditionally knock-out animals inbred with Alzheimer's mice, 3 non-tamoxifen treated controls and 2 tamoxifen controls. The following groups are studied:

- a. [redacted]. At the optimal model and [redacted] at 2 stages of Alzheimer's as derived from Ia-d, we will examine IHC and proteomics requiring 1 model x [redacted] x [redacted] of Alzheimer's x 14 (6IHC, 8 proteomics) animals x 2 conditions (both hibernating and control animals) x 8 groups = 448 mice.
- b. [redacted]. We will test early and late intervention in 1 model at the optimal [redacted] of Alzheimer's. This requires 2 interventions x 1 model x [redacted] of Alzheimer's x 14 animals x 3 groups (WFF and 2 controls) x 8 groups = 1344 mice.

In total, phase III requires 1792 animals of which 672 animals.

In total 3138 animals are requested, from which 1190 animals are allocated to [redacted]. We estimate a success rate of [redacted] in both models at 80%, requiring an additional 298 animals. Thus a total maximum of 3436 animals is required. Of note is that this represents the total amount of animals should all of the conditions outlined be covered.

---

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

In phase II we aim to test the effectiveness of [redacted]

Numbers of animals are based on the minimum number of animals used in previous comparable research that could lead to statistical relevant analyses.

## B. The animals

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

Species: mus musculus, C57BL/6; [redacted].

Origin: Harlan / Charles River, or own breeding

---



Estimated numbers: 3436 animals  
Life stages: adults, 3-8 months of age, males

We use male mice, [REDACTED]

### C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

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

No

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

### D. Replacement, reduction, refinement

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

Reduction and refinement: [REDACTED] are performed in the same animals. [REDACTED], IHC of certain markers and proteomics, require a separate cohort of animals as cell [REDACTED] parameters are affected by previous [REDACTED]. Other organs will be provided to other research groups/PhD's to be examined.

Replacement is not possible given the complexity of developing Alzheimer's Disease [REDACTED] has to be tested in order to identify [REDACTED] rescue related to [REDACTED]

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

The procedures will be performed in quiet environments to minimize fear and stress when animals are not under general anesthesia. Animals will be group housed for as long as possible. During surgical procedures, anesthetic depth is frequently checked and if needed the anesthetic dose is adjusted. Post-testing anxiety will be attenuated by recovery in a quiet area in their home cage. Since anesthesia interferes with some of the experimental outcomes and it is necessary to sacrifice animals by decapitation/cervical dislocation instead, however it has been shown that when performed properly animal suffering should not be higher than when they are put under sedation. Before perfusion animals will be put under full sedation, which is regularly checked.

[REDACTED] - is performed by expert personnel to reduce the amount of fear, although this is inherent of the procedure. [REDACTED]

Animals will be handled regularly to enable euthanization by decapitation/cervical dislocation without inducing stress. All testing and handling of the animals will be performed by experienced and trained personnel.

## Repetition and duplication

### E. Repetition

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

No literature can be found on testing hibernation as a therapeutic intervention for Alzheimer's Disease

## Accommodation and care

### F. Accommodation and care

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

No

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

### G. Location where the animals procedures are performed

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

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

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

## Classification of discomfort/humane endpoints

### H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

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

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

Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

Surgery to [REDACTED] be performed under general anesthesia with isoflurane. Just prior to the closure of wounds, animals receive a s.c. injection with carprofen. Animals will be monitored after surgery to insure no unnecessary suffering or adverse effects appear.

### I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

Stress, particular in response to behavioral testing

Explain why these effects may emerge.

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

Ensure absence of additional stressful events through handling by expert personnel, stress levels will be monitored and overall animal welfare will be monitored to ensure the stress does not exceed stress levels expected for the behavioral tests (humane endpoints).

### J. Humane endpoints

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

No > Continue with question K.

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

Major changes in food and water intake, behavior and general condition (fur, movements) or an excessive weight loss, exceeding the normal weight loss when switching from [REDACTED]

[REDACTED] in addition to the above: wound healing problems, signs of discomfort on handling.

Indicate the likely incidence.

Incidence is likely very low or absent, as mice normally endure [REDACTED] in mouse have been found so far.

### K. Classification of severity of procedures

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

[REDACTED] - moderate

[REDACTED] - mild

[REDACTED] - mild

\* Single housing: mild

\* [REDACTED] mild

\* [REDACTED] : moderate

\* [REDACTED] : moderate

\* [REDACTED] : moderate

Euthanasia under anesthesia with/without perfusion - no recovery

[REDACTED] - no recovery

[REDACTED] - mild, no recovery

Overall this leads to the following:

30%: mild (Phase I: 2-3 times [REDACTED] - termination under anesthesia)

70%: moderate (Phase II: [REDACTED] tests)

PM: Alzheimer mouse models display increased mortality at young age. As we use animals older [REDACTED], we did not take this into account in this appendix.

## End of experiment

### L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No > Continue with Section 3: 'signatures'.

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

In order to obtain organs for electrophysiological, molecular and IHC analysis.

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

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

Yes

## Appendix

### Description animal procedures

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

#### 1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	10500	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Rijksuniversiteit Groningen	
1.3	List the serial number and type of animal procedure.	Serial number	Type of animal procedure
		2	Effectiveness of ██████████ Alzheimer's disease models

*Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.*

#### 2 Description of animal procedures

##### A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

Alzheimer's disease is one of the most prevalent chronic neurodegenerative diseases, characterized by memory loss, and disturbances of speech, visiospatial function, planning and judgment. Apart from loss of neurons, [redacted] inflammation, oxidative stress and finally loss [redacted].

[redacted] processes still

remain elusive, and therapy is mainly symptomatic.

In this appendix we explore whether [redacted] represent interesting targets to protect the brain from Alzheimer's disease and test the efficacy of a novel class of [redacted] in stressed cells.

This project aims to investigate (1) the importance of the [redacted] Alzheimer's disease. Thus we aim to study [redacted] Alzheimer's models and to test the efficacy of pharmacological intervention by oral treatment with [redacted]

To this end, the following mouse Alzheimer's models will be used:

- [redacted]
- [redacted]
- [redacted]

These mouse models have been used before in our institution, using both the analysis of [redacted] and molecular analysis. Moreover, efficacy of compounds has been tested prior in these models. Finally, we expect that compounds can be oral administered, which makes testing in the (longer duration) J20 and APP/PS1 model highly feasible.

Primary outcome measures constitute:

- [redacted]
- [redacted]
- [redacted]
- [redacted]

The project constitutes 2 phases:

1. testing of [redacted] Alzheimer's models
2. if effective, exploration of the involvement of [redacted]

---

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

Alzheimer models:

[REDACTED]

All models are operational in our facilities with appropriate conditions and expert technical knowledge and skills are available to examine [REDACTED] in collaboration with partners on the project, [REDACTED]

Compound testing:

Animals models are orally treated by administration via the food.

[REDACTED]

[REDACTED] tests are performed in the models.

[REDACTED]

Euthanization of mice:

Animals are sacrificed by [REDACTED] and subsequent harvesting of other

[REDACTED], (2) induction of anesthesia inevitably produces considerable stress (both by smelling of the volatile anesthetic and in the following excitation phase), which releases stress hormones also influencing [REDACTED]. In addition, [REDACTED] suggest that animal welfare is unaffected by [REDACTED] to euthanization under anesthesia [10]. Animals will be handled regularly to enable stress free cervical dislocation.

We expect to test vehicle and 3 compounds in each model and use [REDACTED] [REDACTED] as a positive control (i.e. 5 interventions). Hence the initial phase comprises 5 interventions x 3 models x 10 animals = 150 animals. In addition, in the second phase we expect to test 2 compounds in comparison to vehicle and [REDACTED] [REDACTED] (total 4 interventions) in 2 models in 3 strains of mice conditionally knock-out for the various [REDACTED] [REDACTED] or other genes and appropriate controls (one per knockout). This part thus comprises 4x2x6x10= 480 animals.

In total the project requires 630 animals.

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

We aim both for the testing of effectiveness of interventions and for the relation between [REDACTED]. Because of the second aim, a slightly higher number of animals per group is needed (10 animals) than would be needed to compare compounds (7 animals), as used in previous comparable research that could lead to statistical relevant analyses.

#### **B. The animals**

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

Species: mus musculus, C57BL/6, [REDACTED].  
Origin: [REDACTED]  
Estimated numbers: 120 animals, males  
Life stages: adults.

We use male mice, as gender differences in development of [REDACTED] in transgenic mice are known, and because previous experiments serving as reference were performed in male mice, [REDACTED].

#### **C. Re-use**

Will the animals be re-used?

- No, continue with question D.  
 Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.

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

- No  
 Yes> Provide specific justifications for the re-use of these animals during the procedures.

#### **D. Replacement, reduction, refinement**

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



Reduction and refinement: [REDACTED] Alzheimer's. [REDACTED]. Other organs will be made available to other research projects.

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

The procedures will be performed in quiet environments to minimize fear and stress when animals are not under general anesthesia. During surgical procedures, anesthetic depth is frequently checked and if needed the anesthetic dose is adjusted. Postoperative pain and suffering will be attenuated by administration of carprofen that is given to all animals during the surgical procedure as standard care. The mice will recover quietly and will be monitored closely in the postoperative phase. When there are signs of postoperative pain during their stay in the animal housing accommodation, carprofen will be administered subcutaneously.

[REDACTED]  
Animals will be handled regularly to enable euthanization by cervical dislocation without inducing stress.

### Repetition and duplication

#### E. Repetition

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

We are sure that no one has determined the efficacy of our propriety compounds in these models.

### Accommodation and care

#### F. Accommodation and care

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

No

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

#### G. Location where the animals procedures are performed

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

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

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

### Classification of discomfort/humane endpoints

#### H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

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

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

Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

Just prior to the closure of wounds, animals receive a s.c. injection with carprofen.

### I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

Stress, particular in response to

Explain why these effects may emerge.

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

Ensure absence of additional stressful events through handling by expert personnel.

### J. Humane endpoints

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

No > Continue with question K.

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

Wound healing disturbances, major changes in food and water intake, behavior and general condition (fur, movements) or a weight loss exceeding 15% in 3 days post surgery.

Indicate the likely incidence.

Incidence is likely very low or absent. any sign of negative effects. None of the listed symptoms were found.

### K. Classification of severity of procedures

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

33%: Moderate - termination under anesthesia)

66%: mild - termination under anesthesia)

## End of experiment

### L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No > Continue with Section 3: 'signatures'.

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

Obtain organs for molecular analysis and to study biodistribution of the drug.

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

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

Yes

# Format DEC-advies

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

## A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: (Interne RUG code **8040**)
2. Titel van het project: **Brain protective strategies using hibernation and hibernation-derived** [REDACTED]
3. Titel van de NTS : **Preventie van de ziekte van Alzheimer door winterslaap en winterslaap-afgeleide stoffen**
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: **03-12-2016**
  - aanvraag compleet: **03-12-2016**
  - in vergadering besproken: **10-12-2016**
  - anderszins behandeld : **27-01-2016, 08-02-2016**
  - termijnonderbreking(en) van / tot : **16-12-2015 tot 22-01-2016, 27-01-2016 tot 02-02-2016**
  - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen **n.v.t.**
  - aanpassing aanvraag: **22-01-2016, 02-02-2016**
  - advies aan CCD: **16-02-2016**
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 geleid tot aanpassing van de aanvraag

8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: **16-12-2015, 27-01-2016**

- Strekking van de vraag / vragen: **De oorspronkelijk ingediende aanvraag omvatte vijf appendices, alle gericht op de effecten van winterslaap en winterslaap-afgeleide stoffen op**

**ziekte van Alzheimer. Ook werd verzocht de dieraantallen duidelijker te onderbouwen en – waar mogelijk – go/no go momenten dan wel faseringen aan te brengen.**

- Datum antwoord: **22-01-2016, 02-02-2016**

- Strekking van het (de) antwoord(en): **De aanvrager heeft de adviezen volledig gevolgd wat geresulteerd heeft in een aangepaste hoofdaanvraag met twee appendices. Dieraantallen zijn nauwkeurig gevalideerd, faseringen zijn aangegeven.**

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag: **ja**

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

- Aard expertise

- Deskundigheid expert

- Datum verzoek

- Strekking van het verzoek

- Datum expert advies

- Expert advies

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

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet): **ja**

2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag: **ja**

3. De DEC is competent om hierover te adviseren: **ja**

4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering: **n.v.t.**

## **C. Beoordeling (inhoud):**

1. Het project is:

x uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord

2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) is / zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en): **ja**
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een **substantieel** belang
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project: **ja**
5. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd: **geen bijzonderheden**
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geëvalueerd: **ja**
7. Er zijn **geen** methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven: **ja, door waar mogelijk [REDACTED] uit te voeren met (weefsel van) hetzelfde dier.** Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat: **ja**. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt: **de aanvrager heeft op zeer heldere wijze de fasering en de te behalen milestones bij elke fase aangegeven**
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd: **ja**. Er is **geen** sprake van belangwekkende milieueffecten
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd: **ja**.

## **D. Ethische afweging**

Waar de mechanismen die bij wisselende episoden van slapen (torpor) en (kort) ontwaken tijdens winterslaap een rol spelen, tot het begin van deze eeuw nagenoeg onbekend waren, heeft het onderzoek van de laatste jaren een geheel nieuwe fysiologie en farmacologie van de onderliggende processen, zowel op functioneel als op moleculair niveau, aan het licht gebracht. Gebleken is dat de orgaanschade die tijdens de torpor-fase ontstaat – en die in belangrijke mate ook bij de vroege fase van de ziekte van Alzheimer is vastgesteld – tijdens de daaropvolgende waakfase zeer snel herstelt. Deze ontwikkeling is mede toe te schrijven aan wetenschappelijk onderzoek met muizen. Het voorgestelde onderzoek past in deze lijn.

Het onderhavige project exploreert in muizenmodellen van de ziekte van Alzheimer [REDACTED]

Het project is zorgvuldig geconcipeerd en is goed navolgbaar, is duidelijk gefaseerd opgezet met milestone-momenten, en zeer precies is aangegeven welke technieken worden toegepast. Ook de dieraantallen zijn bij elke fase nauwkeurig verantwoord.

Mede op basis van gepubliceerd vooronderzoek en de track-record van deze onderzoeksgroep, die internationaal een leidende positie inneemt, schat DEC-RUG de slaagkans van dit project hoog in.

De DEC realiseert zich dat een deel van de dieren tot ernstig ongerief zal ondergaan. Zij heeft dat meegenomen in haar ethische afweging. DEC-RUG concludeert alles afwegende dat uitvoering van het onderzoek ethisch verantwoord is vanwege een combinatie van 1) het maatschappelijk belang van voortgang in het Alzheimer-onderzoek, 2) de kans op wetenschappelijk succes van dit project plus 3) de zorgvuldige wijze waarop naleving van de 3 V's is verantwoord.

## **E. Advies**

### 1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning te verlenen

### 2. Het uitgebrachte advies is unaniem door de DEC genomen.





> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan  
9713 AV GRONINGEN



**Centrale Commissie  
Dierproeven**

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

**Onze referentie**

Aanvraagnummer  
AVD105002016427

**Bijlagen**

1

Datum 18 februari 2016

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 17 februari 2016.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD105002016427. 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.

**Meer informatie**

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier

### **Gegevens aanvrager**

Uw gegevens

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

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

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

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

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

**Over uw aanvraag**

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

**Over uw project**

Geplande startdatum: 1 april 2016  
Geplande einddatum: 1 april 2021  
Titel project: Brain protective strategies using hibernation and hibernation-derived [REDACTED]  
Titel niet-technische samenvatting: Preventie van de ziekte van Alzheimer door winterslaap en winterslaap-afgeleide stoffen  
Naam DEC: DEC-RUG  
Postadres DEC: A. Deusinglaan 1, [REDACTED]  
E-mailadres DEC: secrdec.umcg@umcg.nl

**Betaalgegevens**

De leges bedragen: € 1187,-  
De leges voldoet u: via eenmalige incasso

**Checklist bijlagen**

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

**Ondertekening**

Naam: [REDACTED]  
Functie: [REDACTED]  
Plaats: GRONINGEN

# Format DEC-advies

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

## A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: (Interne RUG code **8040**)
2. Titel van het project: **Brain protective strategies using hibernation and hibernation-derived** [REDACTED]
3. Titel van de NTS : **Preventie van de ziekte van Alzheimer door winterslaap en winterslaap-afgeleide stoffen**
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: **03-12-2016**
  - aanvraag compleet: **03-12-2016**
  - in vergadering besproken: **10-12-2016**
  - anderszins behandeld : **27-01-2016, 08-02-2016**
  - termijnonderbreking(en) van / tot : **16-12-2015 tot 22-01-2016, 27-01-2016 tot 02-02-2016**
  - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen **n.v.t.**
  - aanpassing aanvraag: **22-01-2016, 02-02-2016**
  - advies aan CCD: **16-02-2016**
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 geleid tot aanpassing van de aanvraag

## 8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: **16-12-2015, 27-01-2016**

- Strekking van de vraag / vragen: **De oorspronkelijk ingediende aanvraag omvatte vijf appendices, alle gericht op de effecten van winterslaap en winterslaap-afgeleide stoffen op diverse,**

**de aanvraag te concentreren op de ziekte van Alzheimer. Ook werd verzocht de dieraantallen duidelijker te onderbouwen en – waar mogelijk – go/no go momenten dan wel faseringen aan te brengen.**

- Datum antwoord: **22-01-2016, 02-02-2016**

- Strekking van het (de) antwoord(en): **De aanvrager heeft de adviezen volledig gevolgd wat geresulteerd heeft in een aangepaste hoofdaanvraag met twee appendices. Dieraantallen zijn nauwkeurig gevalideerd, faseringen zijn aangegeven.**

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag: **ja**

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

- Aard expertise

- Deskundigheid expert

- Datum verzoek

- Strekking van het verzoek

- Datum expert advies

- Expert advies

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

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet): **ja**

2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag: **ja**

3. De DEC is competent om hierover te adviseren: **ja**

4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering: **n.v.t.**

## **C. Beoordeling (inhoud):**

1. Het project is:

x uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord

2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) is / zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en): **ja**
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een **substantieel** belang
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project: **ja**
5. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd: **geen bijzonderheden**
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geassocieerd: **ja**
7. Er zijn **geen** methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven: **ja, door waar mogelijk** [REDACTED] **hetzelfde dier.** Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat: **ja**. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt: **de aanvrager heeft op zeer heldere wijze de fasering en de te behalen milestones bij elke fase aangegeven**
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd: **ja**. Er is **geen** sprake van belangwekkende milieueffecten
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd: **ja**.

## D. Ethische afweging

Waar de mechanismen die bij wisselende episoden van slapen (torpor) en (kort) ontwaken tijdens winterslaap een rol spelen, tot het begin van deze eeuw nagenoeg onbekend waren, heeft het onderzoek van de laatste jaren een geheel nieuwe fysiologie en farmacologie van de onderliggende processen, zowel op functioneel als op moleculair niveau, aan het licht gebracht. Gebleken is dat de orgaanschade die tijdens de torpor-fase ontstaat – en die in belangrijke mate ook bij de vroege fase van de ziekte van Alzheimer is vastgesteld – tijdens de daaropvolgende waakfase zeer snel herstelt. Deze ontwikkeling is mede toe te schrijven aan wetenschappelijk onderzoek met muizen. Het voorgestelde onderzoek past in deze lijn.

Het onderhavige project exploreert in muizenmodellen van de ziekte van Alzheimer [REDACTED]

Het project is zorgvuldig geconcipeerd en is goed navolgbaar, is duidelijk gefaseerd opgezet met milestone-momenten, en zeer precies is aangegeven welke technieken worden toegepast. Ook de dieraantallen zijn bij elke fase nauwkeurig verantwoord.

**Mede op basis van gepubliceerd vooronderzoek en de track-record van deze onderzoeksgroep, die internationaal een leidende positie inneemt, schat DEC-RUG de slaagkans van dit project hoog in.**

**De DEC realiseert zich dat een deel van de dieren tot matig ongerief zal ondergaan. Zij heeft dat meegenomen in haar ethische afweging. DEC-RUG concludeert alles afwegende dat uitvoering van het onderzoek ethisch verantwoord is vanwege een combinatie van 1) het maatschappelijk belang van voortgang in het Alzheimer-onderzoek, 2) de kans op wetenschappelijk succes van dit project plus 3) de zorgvuldige wijze waarop naleving van de 3 V's is verantwoord.**



## **E. Advies**

### 1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning te verlenen

### 2. Het uitgebrachte advies is unaniem door de DEC genomen.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan  
9713 AV GRONINGEN



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

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD105002016427  
**Bijlagen**  
1

**Datum** 5 april 2016  
**Betreft** Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Op 17 februari 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Brain protective strategies using hibernation and hibernation-derived" met aanvraagnummer AVD105002016427. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

### **Beslissing**

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. De algemene voorwaarde betreffende artikel 10, lid 1a van de wet wordt gesteld bij vergunningen met een langere looptijd. Dit om te voldoen aan datgene wat volgt uit dit artikel. U kunt met uw project "Brain protective strategies using hibernation and hibernation-derived" starten. De vergunning wordt afgegeven van 5 april 2016 tot en met 1 april 2021. De looptijd van de vergunning wijkt af omdat de startdatum in de aanvraag in het verleden ligt.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

### **Procedure**

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-RUG gevoegd. Dit advies is opgesteld op 16 februari 2016. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet. Wij hebben de DEC om aanvullende informatie gevraagd. Op 7 maart 2016 heeft de DEC gereageerd op onze vragen. De DEC

is verzocht om een verschrijving met betrekking tot de ongerief classificatie in de ethische afweging van haar advies te corrigeren. Er is een aangepast DEC advies naar de CCD gestuurd, zonder gevolgen op het besluit. In aanvulling op het DEC-advies stelt de CCD voorwaarden. De voorwaarden staan in de vergunning beschreven. Voor het overige nemen wij het advies van de DEC over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

### **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](http://www.centralecommissiedierproeven.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze:



ir. G. de Peuter  
Algemeen Secretaris

### **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 [REDACTED]

Postcode en plaats: 9713 AV GRONINGEN

Deelnemersnummer: 10500

deze projectvergunning voor het tijdvak 5 april 2016 tot en met 1 april 2021, voor het project "Brain protective strategies using hibernation and hibernation-derived [REDACTED] met aanvraagnummer AVD105002016427, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-RUG. In aanvulling op het advies van de DEC stelt de CCD twee voorwaarden.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 17 februari 2016
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 18 februari 2016;
  - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 18 februari 2016;
  - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 16 februari 2016, ontvangen op 19 februari 2016, en aangepast op 7 maart 2016.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Effectiveness of hibernation in mouse Alzheimer's disease	Muizen ( <i>Mus musculus</i> ) / C57BL/6; [REDACTED]	3436	30,00% Licht 70,00% Matig	
Effectiveness of [REDACTED] in mouse Alzheimer's disease models	Muizen ( <i>Mus musculus</i> ) / C57BL/6; [REDACTED]	630	33,00% Matig 66,00% Licht	

### Voorwaarden

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

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat go/no go momenten worden afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.

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.

**Van:** Info-zbo  
**Verzonden:** dinsdag 5 april 2016 15:53  
**Aan:** [REDACTED]  
**Onderwerp:** terugkoppeling besluit op aanvraag AVD105002016427

Geachte DEC-RUG,

Op 17-02-2016 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project 'Brain protective strategies using hibernation and hibernation-derived [REDACTED]' met aanvraagnummer AVD105002016427.

De CCD heeft de aanvrager geen aanvullende vragen gesteld.

Op verzoek van de CCD heeft u een verschrijving in uw advies aangepast.

Wij danken u voor uw advies en koppelen graag het oordeel van de CCD over deze aanvraag aan u terug. De CCD heeft besloten de vergunning te verlenen. Er zijn geen specifieke voorwaarden aan de vergunning verbonden.

Mocht u vragen hebben over onze beslissing, dan kunt u uiteraard contact met ons opnemen. De aanvrager en de verantwoordelijk onderzoeker zijn hierover ingelicht.

We hopen u op deze wijze voldoende geïnformeerd te hebben.

Met vriendelijke groet,

**Centrale Commissie Dierproeven** [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

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

**T: 0900 2800028**

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