

Inventaris Wob-verzoek W17-07		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document NTS 2017852	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
1	Aanvraagformulier				x		x		
2	NTS	x							
3	Projectvoorstel			x					
4	Bijlage animal procedure			x					
5	Ontvangstbevestiging				x		x		
6	DEC advies			x					
7	Advies CCD		x						x
8	Beschikking en vergunning				x		x		



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.centralecommissiedierproeven.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	10800
		<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Universiteit Utrecht
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	30275924
		Straat en huisnummer	Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht
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>	Postbus	12007
		Postcode en plaats	3501AA Utrecht
		IBAN	NL271INGB0000425267
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Utrecht
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	Assistant professor
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
		Functie	PhD student
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]

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

2 Over uw aanvraag

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

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- | | |
|------------|--------------|
| Startdatum | 1 - 3 - 2017 |
| Einddatum | 1 - 9 - 2020 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Relevance of Advanced Glycation Endproducts in feline Nutrition
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Relevantie van eiwit-suiker verbindingen in kattenvoeding
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|-------------------------------|
| Naam DEC | DEC Utrecht |
| Postadres | Postbus 85500 3508 GA Utrecht |
| E-mailadres | dec-utrecht@umcutrecht.nl |

4 Betaalgegevens


- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 568 Lege
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.
 Via een eenmalige incasso
 Na ontvangst van de factuur


5 Checklist bijlagen


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

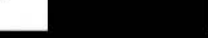
6 Ondertekening

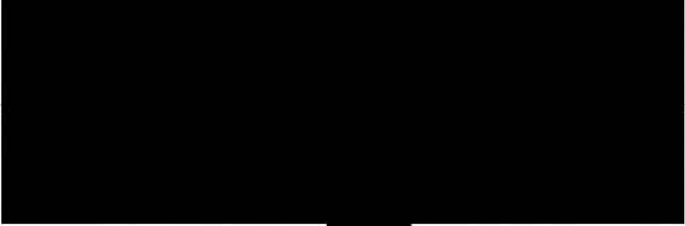
- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:
- Centrale Commissie
 Dierproeven
 Postbus 20401
 2500 EK Den Haag
- Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende 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 

Datum *Utrecht*
31-01-2017 

Handtekening 



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.centralecommissiedierproeven.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
- 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.

Age-related diseases, like renal disease and diabetes mellitus, have become common in cats, primarily because of the increase in longevity of domestic cats around the world^{1,2}. Interestingly, many studies in humans and animals have shown a possible interrelation between chronic or age-related disease and dietary advanced glycation end products (AGEs)³. Dietary AGEs in humans are suspected to be involved



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.centralecommissiedierproeven.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
- 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.

Age-related diseases, like renal disease and diabetes mellitus, have become common in cats, primarily because of the increase in longevity of domestic cats around the world^{1,2}. Interestingly, many studies in humans and animals have shown a possible interrelation between chronic or age-related disease and dietary advanced glycation end products (AGEs)³. Dietary AGEs in humans are suspected to be involved

in pathogenesis of chronic diseases associated with underlying inflammation⁴. It is assumed that this relation also exists in cats, as the pathophysiology of chronic diseases such as diabetes mellitus in cats and humans is similar². AGEs are compounds of sugar moieties and proteins, and are formed during a non-enzymatic glycation reaction between a reducing sugar and a protein, known as the Maillard reaction⁵. Endogenous formation of AGEs can occur under physiological conditions, but retention in the body is limited by intrinsic detoxification⁶. In humans, food-derived AGEs are thought to be an important exogenous source of exposure. Several factors, including nutrient constituents, moisture, pH, cooking temperature, and length of food processing, influence the formation of dietary AGEs⁷. Results from a previous study by Rooijen et al.⁸, showed that extruded, canned and pelleted cat foods contain high amounts of specific AGEs. As the popularity of commercially prepared pet foods is increasing globally⁹, the percentage of domestic cats that are long-term exposed to a high exogenous AGEs intake increases as well. Thus the relevance of food-derived AGEs for cat health is of concern, such as possible effects of dietary AGEs on pathogenesis of chronic diseases.

Limited data are available on physiological AGEs formation and metabolism in cat. The endogenous formation is thought to occur as described in mice¹⁰ and humans¹¹. However, the domestic cat is known to have a unique carbohydrate metabolism, because of its carnivorous nature¹². As such extrapolation of data from rodent studies may not be valid. Van Rooijen et al.¹³, performed a study in which the excretion of specific AGEs in cat urine was measured, and found data were extrapolated to bioavailability of those AGEs. Nevertheless, postprandial serum AGEs, dose response to dietary AGEs and effects on oxidative stress were not studied and remain unknown.

Since the domestic cat is an obligate carnivore which has a unique glucose metabolism¹², the rate of endogenous Maillard reactions between feline serum albumin and reducing sugars in cats may differ from other animals including humans. Investigation in cats, using feline serum albumin for an in vitro study on AGEs formation, are needed for reliable conductance of the follow-up in vivo experiment (see Appendix) with cats, in which the influence of different dietary sugars on endogenous AGEs formation will be studied under controlled conditions. Moreover, the effect of dietary AGEs on postprandial serum AGEs, dose response to dietary AGEs and effects on oxidative stress will be studied as well (see Appendix). The main purpose of the studies in this proposal is to obtain basic knowledge on AGEs metabolism in cats, which is needed to perform further studies on possible pathogenic effects of AGEs in cats. The researchers have assured themselves that the data generated in this study are unique and the study is not previously performed.

¹Saunders, A. B. (2012). The diagnosis and management of age-related veterinary cardiovascular disease. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 42(4), 655–68, vi.

²Hoenig, M. (2014). Carbohydrate metabolism and pathogenesis of diabetes mellitus in dogs and cats. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 121, 377–412.

³Mulder, D. J., Water, T. Van De, Lutgers, H. L., Graaff, R., Gans, R. O., Zijlstra, F., & Smit, A. J. (2006). Skin autofluorescence, a novel marker for glycemic and oxidative stress-derived advanced glycation endproducts: an overview of current clinical studies, evidence, and limitations. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 8(5), 523–35.

⁴Uribarri, J., Cai, W., Sandu, O., Peppas, M., Goldberg, T., & Vlassara, H. (2005). Diet-derived advanced glycation end products are major contributors to the body's AGE pool and induce inflammation in healthy subjects. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1043, 461–466.

⁵Henle, T. (2005). Protein-bound advanced glycation endproducts (AGEs) as bioactive amino acid derivatives in foods. *Amino Acids*, 29, 313–322. <http://doi.org/10.1007/s00726-005-0200-2>

⁶Thornalley, P. J., & Rabhani, N. (2014). Detection of oxidized and glycated proteins in clinical samples using mass spectrometry--a user's perspective. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1840(2), 818–29.

⁷Poulsen, M. W., Hedegaard, R. V., Andersen, J. M., de Courten, B., Bügel, S., Nielsen, J., ... Dragsted, L. O. (2013). Advanced glycation endproducts in food and their effects on health. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 60, 10–37.

⁸Rooijen, C. Van, Bosch, G., Poel, A. F. B. Van Der, Wierenga, P. a, Alexander, L., & Hendriks, W. H. (2014). Quantitation of Maillard Reaction Products in Commercially Available Pet Foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

⁹Stepien, M., Mahony, L. O., Sullivan, A. O., Collier, J., Fraser, W. D., Gibney, J., ... Brennan, L. (2013). *Journal of nutritional science*, 25, 1–9.

- ¹⁰ Mastrocola, R., Nigro, D., Chiazza, F., Medana, C., Dal Bello, F., Boccuzzi, G., ... Aragno, M. (2016). Fructose-derived advanced glycation end-products drive lipogenesis and skeletal muscle reprogramming via SREBP-1c dysregulation in mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 91, 224–235.
- ¹¹ Bierhaus, A., Hofmann, M. A., Ziegler, R., & Nawroth, P. P. (1998). AGEs and their interaction with AGE-receptors in vascular disease and diabetes mellitus. I. The AGE concept. *Cardiovascular Research*, 37(3), 586–600.
- ¹² Schermerhorn, T. (2013). Normal glucose metabolism in carnivores overlaps with diabetes pathology in non-carnivores. *Frontiers in Endocrinology*, 4(DEC), 1–14.
- ¹³ Van Rooijen, C., Bosch, G., Butré, C. I., Van Der Poel, A. F. B., Wierenga, P. A., Alexander, L., & Hendriks, W. H. (2016). Urinary excretion of dietary Maillard reaction products in healthy adult female cats 1,2. *J. Anim. Sci*, 94, 185–195.

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?

Based on the possible involvement of AGEs in pathogenesis of chronic diseases, it is important to investigate these metabolites in cats. To be able to do so, it is of importance to obtain fundamental insight into AGEs metabolism, endogenous AGEs formation, exogenous AGEs absorption and AGEs excretion.

In this project there is a collaboration with the Animal Nutrition Group of Wageningen University. This research group has experience in AGEs research in companion animal feed. In addition, we have collaboration with the laboratory of Food Chemistry, Wageningen University and Research, in order to measure AGEs in our samples.

To achieve the main aim of this project, 2 main objectives are formulated;

Objective 1. To clarify factors involved in endogenous AGEs formation in domestic cats (e.g. type and level of dietary sugars).

Objective 2. To determine dose-response effects of dietary AGEs on absorption, excretion, and oxidative stress, in domestic cats.

3.3 Relevance

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

Scientific relevance: This study aims to contribute to a fundamental understanding of metabolism of AGEs and the influence of nutrition on their formation in cats. This knowledge is essential to be able to study the involvement of AGEs on development of chronic diseases in cats, as AGEs accumulation in the body is scientifically related to increased chronic disease risks in humans. The experiments are designed to collect information that is relevant to domestic cats, and may serve to be important in future studies on disease prevention and/or risk reduction in this species.

Social relevance: Nowadays, companion animals, such as cats and dogs, are increasingly being considered as family members. Regarding to their pet's health, pet owners are becoming more concerned and educated about enhancing quality of life and life expectancy for their pets. Pet food is one of the external influences on disease risk in cats. To ensure their best health and highest quality of life, it is important to understand possible risk factors involved in cat feeding, and attempt to reduce these risk factors. With the data from this research, pet owners can be better educated/advised on the preferred way to feed their animals for a long and healthy life.

3.4 Research strategy

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

This project aims to elucidate the metabolism of AGEs in cats, in order to gain a better understanding on their possible role in development of chronic diseases. First, an *in vitro* study will be performed to obtain basic information on the sensitivity of Maillard reactions between dietary sugars and feline albumin and to assess a possible dose-response. Types of dietary sugars, for example glucose, fructose and high fructose corn syrup (HFCS), will be chosen based on its involvement in glycation reactions in the body, a possible association with pathogenesis of chronic diseases (e.g. diabetes mellitus and kidney diseases), and abundance in normal food. Secondly, AGEs formation under physiological condition will be studied *in vivo*, to estimate basal formation of endogenous AGEs as well as to assess dietary factors (reducing sugars) which accelerate endogenous AGEs formation (*in vivo* study 1). Lastly, the extend of absorption of exogenous AGEs via the gastrointestinal tract will be studied, as well as elimination kinetics of the metabolites formed out of these dietary AGEs (*in vivo* study 2). In order to be able to distinguish between endogenously- and exogenously-formed AGEs, the control groups in these studies will be fed with a diet that contains negligible amounts of dietary AGEs. AGEs difference in secretion between the two groups can then be attributed to exogenous AGEs absorption. For further clarification of endogenous versus exogenous AGEs metabolism, an overview of the background of the studies that will be performed to meet the objectives of this proposal is given in Figure 1 to 3.

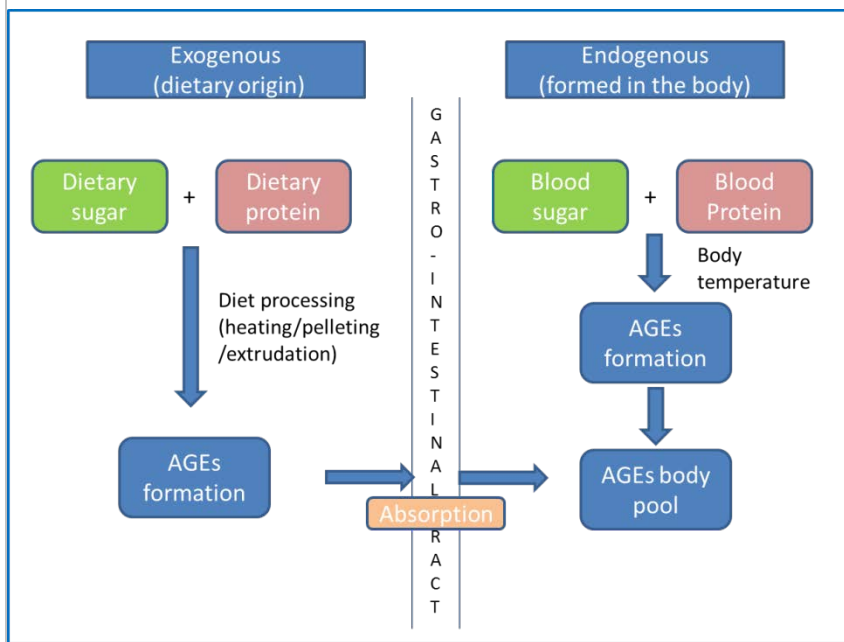


Figure 1: Overview of proposed exogenous versus endogenous metabolism of AGEs

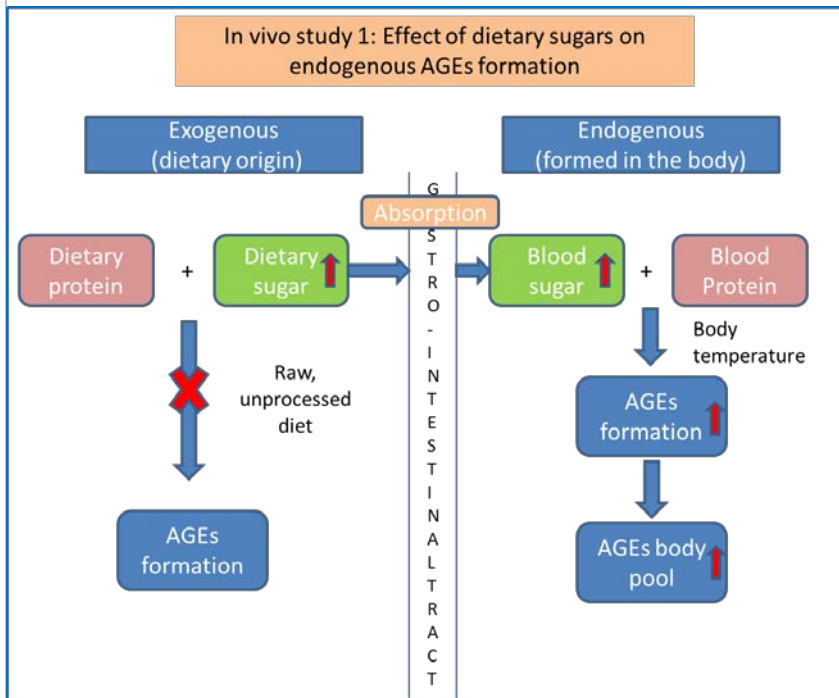


Figure 2: In vivo study 1: Effect of dietary sugars on endogenous AGEs formation

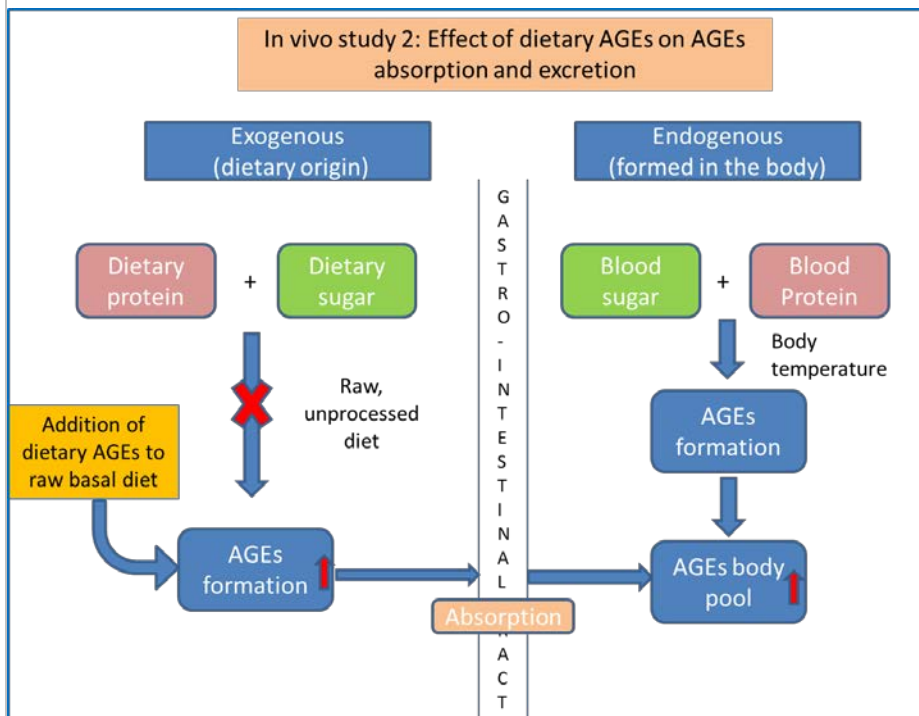


Figure 3: In vivo study 2: Effect of dietary AGEs on AGEs absorption and excretion

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

The project consists of 2 phases.

Phase 1. Research on endogenous AGEs formation; what is the basal level of endogenous formation of AGEs in cats and is it possible to accelerate endogenous AGEs formation by dietary sugars and/or increasing blood sugars (see Figure 2)? A preliminary in vitro study will be carried out first, to be able to

predict possible effects of adding sugars to the blood on endogenous AGEs formation. These data is needed to assess possible effective dosages needed in the follow-up controlled in vivo study with cats to increase endogenous AGEs formation via nutrition.

Phase 2. Effect of dietary exogenous AGEs, fed in different levels, on AGEs absorption, elimination kinetics, and oxidative stress parameters (see figure 3). In a controlled study with cats it will be researched in what extent different amounts of exogenous AGEs in the diet are absorbed and eliminated from the body. Selected blood parameters will be used to assess effects on blood AGEs levels and oxidative stress parameters. Data form the studies in Phase 1 is needed to be able to distinguish between endogenously formed AGEs and exogenously absorbed AGEs.

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.

For coherence of the studies within this project, please see Figure 1 to 3. The Phase 1 studies (in vitro preliminary study and in vivo study as described in Figure 2) aim to assess endogenous formation of AGEs in domestic cats, in which it is aimed to provide the extent of basal endogenous AGEs production and the role of dietary sugars in promoting endogenous AGEs via increasing blood sugars. A preliminary in vitro study will be performed to gain insights in the amount of sugars that may theoretically be needed to exert an effect. These data is needed to better predict amounts of sugars needed in the in vivo study to stimulate endogenous AGEs formation

In Phase 2, exogenous sources of AGEs will be fed to the cats in various levels to elucidate dose-response effects, and possible effects on oxidative stress responses (see Figure 3). Data from the Phase 1 studies is needed to distinguish effects of nutrition on endogenous formation vs. exogenous intake of AGEs, which is the reason why the Phase 1 studies will be performed before the Phase 2 study.

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	Relevance of Advanced Glycation End-products in feline nutrition; <ul style="list-style-type: none"> - In vitro study on the influence of exogenous sugars on endogenous AGEs formation in domestic cats blood - Controlled study on the influence of different dietary sugars on endogenous AGEs formation in cats. - Controlled study on the effect of different levels dietary AGEs on AGEs absorption, elimination and their influence on oxidative parameters in cats.
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



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.centralecommissiedierproeven.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'. 10800
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. Utrecht University
- 1.3 List the serial number and type of animal procedure.
- | Serial number | Type of animal procedure |
|---------------|--|
| 1 | Relevance of Advanced Glycation End-products in feline nutrition |
- 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.

This project, Relevance of Advanced Glycation End-products in feline nutrition, consists of 3 experiments which are:

1. In vitro study on the influence of exogenous sugars on endogenous AGEs formation in domestic cats blood (In vitro study).
2. Controlled study on the influence of different dietary sugars on endogenous AGEs formation in cats (In vivo study 1).
3. Controlled study on the effect of different levels dietary AGEs on AGEs absorption, elimination and their influence on oxidative parameters in cats (In vivo study 1).

Each experiment has its own the general design, which are described below.

In vitro study: The aim of this experiment is to clarify the rate of AGEs formation from serum albumin and reducing sugars under physiological condition. To obtain the result, blood samples will be collected from cats, after which feline serum albumin or red blood cells will be incubated with different types and concentrations of reducing sugars (e.g. glucose and fructose). It is hypothesized that type of sugar and its concentration may significantly affect the reaction rate between blood albumin and the added reducing sugars. Primary outcome parameters are AGEs level after incubation.

In vivo study 1: This experiment aims to elucidate endogenous formation of AGEs in cats and whether alteration in blood glucose level can influence the production. Accordingly, cats will be fed with a raw food (free of dietary AGEs) to give information on basal endogenous AGEs production, and this treatment will serve as the research control. Three different types of sugars (glucose, fructose and high fructose

corn syrup), were chosen based on their relevance for pathogenesis of chronic diseases, their ability to react in Maillard reactions, and their abundance in normal food. Selected sugars will be added on top of the basal raw food diet and each sugar addition serves as a test treatment. The needed dose of each sugar will be obtained from the results of our in vitro study. A control treatment and 3 test treatments will be studied in a Latin square design, to minimise variation and amount of cats needed. Our hypothesis is that an increasing amount dietary sugar leads to a rise in blood glucose, which may increase endogenous AGEs production, and that also the type of sugar used may influence production rate. The primary outcome parameters are serum AGEs and urinary AGEs.

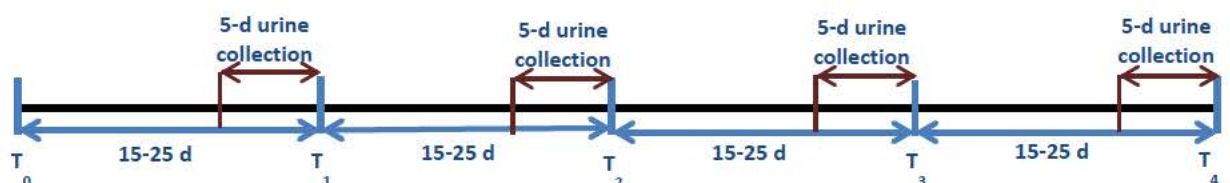
In vivo study 2: In a controlled study with cats it will be researched in what extent different amounts of exogenous AGEs in the diet are absorbed and eliminated from the body. Selected blood parameters will be used to assess effects on blood AGEs levels and oxidative stress parameters. A total of 3 levels of dietary AGEs will be studied, compared to a basal control diet. The control treatment and 3 test treatments will be studied in a Latin square design, to minimise variation and amount of cats needed. Our hypothesis is that an increasing amount dietary AGEs leads to a rise in blood AGEs content, urinary and faecal AGEs excretion, and may affect selected oxidative stress parameters. Primary outcome parameters are serum AGEs, urinary AGEs, faecal AGEs and oxidative stress biomarkers (e.g., sRAGE, TBARS, malondialdehyde).

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

In vitro study: Blood will be taken from cat only one time by a well-trained research technician or veterinarian.

In vivo study 1 and 2: Four parallel balanced Latin square designs will be performed. One Latin square will consist of 4 cats receiving 4 diets; a control treatment and 3 test treatments. Each food will be fed for 15-25 day, consisting of a 10-20 day of adaptation period (group housing) and 5-day urine collection period (individually housing in metabolic cages). Five-day urine collection period is optimal for increasing accuracy of results, which is based on a previous study with cats¹. Blood samples will be taken at the start of the experiment and after each feeding period, with a maximum volume of 4 ml per sample. Blood will thus be taken as a total of 5 times per cat by a well-trained research technician or veterinarian.

Timeline for 1 cat (in vivo study 1 and 2)



¹Hendriks, W. H., Wamberg, S., & Tarttelin, M. F. (1999). A metabolism cage for quantitative urine collection and accurate measurement of water balance in adult cats (*Felis catus*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 82(2-3), 94-105.

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

In vitro study: Since there is a lack of evidence regarding AGEs formation and the influence of nutrition in carnivores, our sample size calculations were estimated based on recent knowledge in other species. A previously published in vitro study¹ described that 10 mg of bovine albumin was needed for glycation under physiological condition with a reducing sugar (e.g. glucose, fructose). Since the normal cat albumin concentration is estimated to be 2.5 – 3.9 mg/mL blood, approximately 3 ml of cat blood is needed to obtain 10 mg of feline albumin. For the in vitro study, it is aimed to test 5 different concentrations of 3 types of reducing sugars (15 in vitro runs) and a control treatment, in duplo (=2x15 + 2x5), leading to an estimation of 120 ml of feline blood needed (40 in vitro runs, with 3 ml feline blood

needed per run). It is estimated that the maximal volume of blood that can be drawn of a single cat without negative side effects is 10% of its total blood volume. The blood volume of a 4 kg cat is estimated to be 7% of its body weight, which is approximately 250 ml. This makes the maximal volume of blood that can be drawn per 4 kg cat equal to 25 ml. Twenty ml of blood will be drawn per cat from a total of 6 cats to obtain enough amount of feline serum albumin without causing adverse effect.

In vivo study 1: A Latin Square design will be used to minimise the number of cats. To determine sample-size, a power analysis was performed based on the result of a previous study in mice² with a power of 80%, an alpha of 0.05 and using serum AGEs as the read-out parameter. This resulted in an estimated number of cats of 17 per experimental group. However, as a Latin Square design will be conducted, in which less variation is assumed, it was estimated that a total of 16 cats in the design (4 cats per group) is appropriate.

In vivo study 2: A Latin Square design will be used to minimise the number of cats. To determine sample-size, coefficient variations were calculated from the results of relevant studies in the literature³⁻⁷, and then compared with the coefficient variation of the reference² used for the sample size calculation for our second experiment in this proposal. A power analysis was performed with a power of 80%, an alpha of 0.05 and using serum AGEs as the read-out parameter. This resulted in an estimated number of cats of 17 per experimental group. However, as a Latin Square design will be conducted, in which less variation is assumed, it was estimated that a total of 16 cats in the design (4 cats per group) is appropriate.

¹Sakai, M., Oimomi, M., & Kasuga, M. (2002). Experimental studies on the role of fructose in the development of diabetic complications. *The Kobe Journal of Medical Sciences*, 48(5–6), 125–136.

²Mastrocola, R., Nigro, D., Chiazza, F., Medana, C., Dal Bello, F., Boccuzzi, G., ... Aragno, M. (2016). Fructose-derived advanced glycation end-products drive lipogenesis and skeletal muscle reprogramming via SREBP-1c dysregulation in mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 91, 224–235.

³Birlouez-Aragon, I., Saavedra, G., Tessier, F. J., Galinier, A., Ait-Ameur, L., Lacoste, F., ... Lecerf, J. M. (2010). A diet based on high-heat-treated foods promotes risk factors for diabetes mellitus and cardiovascular diseases. *American Journal of Clinical Nutrition*, 91(5), 1220–1226.

⁴Brennan, C. M., Stenberg, M. G., Swan, M. S., Eversole, A., Maizels, N., Steitz, J. a, ... Barbara, a. (2003). Ian Reeve, David Hummel, Nathan Nelson, and John Voss, (17), 11441–11446.

⁵De Courten, B., De Courten, M. P. J., Soldatos, G., Dougherty, S. L., Straznicky, N., Schlaich, M., ... Forbes, J. M. (2016). Diet low in advanced glycation end products increases insulin sensitivity in healthy overweight individuals: A double-blind, randomized, crossover trial. *American Journal of Clinical Nutrition*, 103(6), 1426–1433.

⁶Li, M., Zeng, M., He, Z., Zheng, Z., Qin, F., Tao, G., ... Chen, J. (2015). Increased Accumulation of Protein-Bound N^ε-(Carboxymethyl)lysine in Tissues of Healthy Rats after Chronic Oral N^ε-(Carboxymethyl)lysine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(5), 1658–1663.

⁷Poulsen, M. W., Andersen, J. M., Hedegaard, R. V., Madsen, A. N., Krath, B. N., Monošík, R., ... Dragsted, L. O. (2016). Short-term effects of dietary advanced glycation end products in rats. *British Journal of Nutrition*, 115(4), 629–636. [## **B. The animals**](http://Semba, R. D., Gebauer, S. K., Baer, D. J., Sun, K., Turner, R., Silber, H. A., ... Novotny, J. A. (2014). Dietary Intake of Advanced Glycation End Products Did Not Affect Endothelial Function and Inflammation in Healthy Adults in a Randomized Controlled Trial. <i>Journal of Nutrition</i>, (7), 1037–1042.</p></div><div data-bbox=)

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

Healthy adult European short hair cats will be used for this project. All cats originate from a licensed breeder. Cats are being used because they are the target species of our hypothesis.

In vitro study: Total of 6 cats (20 ml of blood per cat) is estimated to be needed to collect the required blood volume (120 ml). It is chosen to slightly reduce the amount of blood drawn per cat as compared to the calculated maximum, to reduce the chance of adverse effects of larger amounts of blood drawl for the cats.

In vivo study 1: A total of 16 healthy adult European short hair cats will be used as the study subjects. These cats are specifically trained for standard nutrition research procedures, including standard blood collection techniques. The amount of cats needed is based on a Power analysis (see above).

In vivo study 2: A total of 16 healthy adult European short hair cats will be used as the study subjects. These cats are specifically trained for standard nutrition research procedures, including standard blood collection techniques. The amount of cats needed is based on a Power analysis (see above).

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.

The cats that are going to be used for this experiment are part of a research cat colony. These cats are specifically trained for standard nutrition research procedures, including standard blood collection techniques, and will, after this experiment, continue to be used for other nutrition experiments and for students training purposes (e.g. learning cat handling techniques). The cats can be reused after recovery time of at least 14 days.

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.

In vitro study:

- Reduction: Total required blood volume was calculated, then total number of cat is chosen to slightly reduce the amount of blood drawn per cat as compared to the calculated maximum, to reduce the chance of adverse effects of larger amounts of blood drawl for the cats (see A).
- Replacement: The blood collection is performed in cats, because the results are required to determine the necessary dosages for the follow-up study (in vivo study 1). Cats are being used because they are the target species of our hypothesis and there is no alternative species to replace cat.

In vivo study 1 and 2:

- Reduction: Latin Square design and appropriate sample size calculation will be used to minimise the number of cats needed.
- Replacement: Cats are being used because they are the target species of our hypothesis and there is no alternative species to replace cat. Alternative animals like rodents may likely differ from cats in digestion, absorption, and metabolism of AGEs, making extrapolation of findings in rodents to cats is not scientifically acceptable.

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

In order to prevent discomfort caused by blood sampling, a well-trained veterinarian or research technician will perform the blood sampling. Samples will be collected from the Jugular vein, and an anesthetic skin gel will be applied on the skin before sampling. These cats are specifically trained for standard nutrition research procedures, including standard blood collection techniques. This will also reduce the level of discomfort in the cats. Visual contact of the cats is possible during the 5-d confinement in the metabolic cages. To reduce social stress, during the 5-d confinement period, the cats will be placed back in the group for a minimum of 1 hour per day under supervision.

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.

Not applicable.

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.

housed according to the Directive in groups, except a 5 day period where the cats are housed individually in a metabolic cage to collect urine samples

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.

An anaesthetic skin gel will be applied to the cat before blood sampling.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

Five-day housing in metabolic cages.

Explain why these effects may emerge.

The confinement may result in stress.

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

Visual contact of the cats is possible during the 5-d confinement in the metabolic cages. In addition, during the 5-d confinement period, the cats will be placed back in group for a minimum of 1 hour per day under supervision to relief their social stress.

J. Humane endpoints

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

No > Continue with question K.

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

Indicate the likely incidence.

K. Classification of severity of procedures

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

Cats may possibly experience mild discomfort from blood sampling and restraint. As well as, they may have moderate discomfort from 5-d confinement.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

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

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



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht

[Redacted]

Postbus 12007

3501 AA UTRECHT



**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
AVD108002017852

Bijlagen

2

Datum 1 februari 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [Redacted],

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 31 januari 2017. Het gaat om uw project "Relevance of Advanced Glycation Endproducts in feline Nutrition". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD108002017852. 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

Datum:

1 februari 2017

Aanvraagnummer:

AVD108002017852

Datum:
1 februari 2017
Aanvraagnummer:
AVD108002017852

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 10800
Naam instelling of organisatie: Universiteit Utrecht
Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde:
KvK-nummer: 30275924
Postbus: 12007
Postcode en plaats: 3501 AA UTRECHT
IBAN: NL27INGB0000425267
Tenaamstelling van het rekeningnummer: Universiteit Utrecht

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam:
Functie: Assistent professor
Afdeling:
Telefoonnummer:
E-mailadres:

Datum:
1 februari 2017
Aanvraagnummer:
AVD108002017852

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: PhD student
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 maart 2017
Geplande einddatum: 1 september 2020
Titel project: Relevance of Advanced Glycation Endproducts in feline Nutrition
Titel niet-technische samenvatting: Relevantie van eiwit-suiker verbindingen in kattenvoeding
Naam DEC: DEC Utrecht
Postadres DEC: Postbus 85500 3508 GA Utrecht
E-mailadres DEC: dec-utrecht@umcutrecht.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1035,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

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

Ondertekening

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Plaats: Utrecht
Datum: 31 januari 2017

Datum:
1 februari 2017
Aanvraagnummer:
AVD108002017852



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UU-ASC
Postbus 80.011
3508 TA UTRECHT


**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
AVD108002017852
Bijlagen
2

Datum 1 februari 2017
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur
Factuurdatum: 1 februari 2017
Vervaldatum: 3 maart 2017
Factuurnummer: 170852
Ordernummer: CB.841910.3.01.011

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD108002017852	€

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL29INGB 070.500.1512 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer : 2016.I.809.018
2. Titel van het project : Relevance of Advanced Glycation End-products in feline nutrition
3. Titel van de NTS : Relevantie van eiwit-suikerverbindingen in kattenvoeding

4. Type aanvraag:

- nieuwe aanvraag projectvergunning
 wijziging van vergunning met nummer :

5. Contactgegevens DEC

Naam DEC : DEC Utrecht
Telefoonnummer contactpersoon : 088 – 75 59 247
Emailadres contactpersoon : dec-utrecht@umcutrecht.nl

6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):

- ontvangen door DEC: 13-12-2016
 aanvraag compleet:
 in vergadering besproken: 04-01-2017
 anderszins behandeld:
 termijnonderbreking(en) van / tot : 11-01-2017/16-01-2017
 besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
 aanpassing aanvraag:
 advies aan CCD: 30-01-2017

7. De aanvraag is afgestemd met de IvD en deze is hiermee akkoord.

8. Eventueel horen van aanvrager

- Datum:
- Plaats:
- Aantal aanwezige DEC-leden:
- Aanwezige (namens) aanvrager:
- Gestelde vragen en verstrekte antwoorden:
- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag.

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum vragen: 11-01-2017
- Datum antwoord: 16-01-2017
- Gestelde vragen en antwoorden:

Projectvoorstel

- 3.3 Belang: De DEC raadt u aan om bij *social relevance* nog aan te geven dat u n.a.v. de resultaten van het project de eigenaren van katten voedingsadvies kunt geven.
Dit is opgenomen in het projectvoorstel.

Bijlage 1

- F. Huisvesting en verzorging: De DEC raadt u aan om hier zowel "No" als "Yes" aan te vinken en een toelichting te geven: housed according to the Directive in groups, except a 5 day period where the cats are housed individually in a metabolic cage to collect urine samples.
Dit is toegevoegd aan de bijlage.
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC)

- Aard expertise:
- Deskundigheid expert:
- Datum verzoek:
- Strekking van het verzoek:
- Datum expert advies:
- Advies expert:

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Er zijn geen DEC-leden betrokken bij het betreffende project.

C. Beoordeling (inhoud):

1. De aanvraag is toetsbaar en heeft voldoende samenhang. Niet alleen mensen worden steeds ouder, maar ook katten leven steeds langer. Een gevolg hiervan is dat katten steeds vaker chronische ouderdomsziekten krijgen, waaronder nierfalen en diabetes. Uit studies bij mensen is gebleken dat voeding een mogelijke risicofactor is in de ontwikkeling van chronische ouderdomsziekten. Tijdens het verhitten van voeding kunnen (afhankelijk van de samenstelling van de voeding en de verhittingsgraad en -duur) verbindingen worden gevormd tussen de suikers en de eiwitten, die "advanced glycation endproducts" (AGE's) worden genoemd. Deze verbindingen zijn normaal in het lichaam aanwezig, maar het vermoeden bestaat dat extra opname van deze AGE's belastend is voor het lichaam. Met betrekking tot de mens bestaat uitgebreide literatuur over AGE's, maar hoe deze AGE's het lichaam precies beïnvloeden is echter nog onduidelijk. Wel is bij de mens waargenomen dat bij sommige chronische ziekten, zoals hart- en vaatandoeningen en suikerziekte, de hoeveelheid van deze AGE's in het lichaam is toegenomen.

Uit onderzoek is gebleken dat ingeblikt kattenvoer, maar in nog sterkere mate droge kattenbrokken, met meer of minder plantaardige componenten waaronder suikers een hoog gehalte AGE's bevatten. Dit wordt mede veroorzaakt door de verhitting tijdens het productieproces. Steeds meer katteneigenaren geven dit type voer aan hun katten. Het is derhalve van belang uit te zoeken of van voedsel afkomstige AGE's van invloed zijn op de gezondheid van de kat en de pathogenese van chronische ouderdomsziekten bij de kat. Het project is opgedeeld in een drietal studies. Er zal worden gestart met een *in vitro/ex vivo* studie, waarbij in kattenbloed de invloed van exogene suikers op de vorming van endogene AGE's wordt bestudeerd. Vervolgens zullen er een tweetal *in vivo* studies plaatsvinden waarbij 1) het effect van dieetsuikers op de endogene vorming van AGE's en 2) het effect van dieet AGE's op de absorptie en uitscheiding van AGE's bestudeerd worden. De relatie tussen het hoofddoel en de subdoelen is helder en vergelijkbaar met voorbeeld 4B uit de 'Handreiking Invulling Definitie Project'.

2. Voor zover de DEC bekend, is er geen mogelijk tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan.
3. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie sluit aan bij de hoofddoelstelling.

Belangen en waarden

4. Het directe doel van het project is het verkrijgen van meer inzicht in de stofwisseling van eiwit-suikerverbindingen bij katten en de rol die voeding speelt bij de vorming van deze verbindingen. Het uiteindelijke doel van het project is achterhalen in hoeverre eiwit-suikerverbindingen bijdragen aan het ontstaan van ouderdomsziekten bij de kat. Met de gegevens die verkregen worden door het realiseren van het directe doel, kan vervolgonderzoek worden gedaan naar de effecten van eiwit-suikerverbindingen op het optreden van chronische ouderdomsziekten bij de kat. De resultaten van dat vervolgonderzoek kunnen mogelijk een antwoord geven op de vraag in hoeverre eiwit-suikerverbindingen bijdragen aan het ontstaan van ouderdomsziekten bij de kat en op basis daarvan kunnen katteneigenaren beter voorgelicht worden over welke voeding goed is voor hun kat. De DEC is daarom van mening dat er in voldoende mate een relatie is tussen het directe doel en het uiteindelijke doel.
5. De belangrijkste belanghebbenden in dit onderzoeksproject zijn: de proefdieren, de doeldieren en de onderzoekers.
Voor de proefdieren geldt dat hun welzijn en integriteit worden aangetast. De katten zullen beperkt worden in hun natuurlijke gedrag en als gevolg van de bloedafname(s) zullen ze stress en pijn ondervinden. Daar tegenover staat dat de kat ook doeldier is en dat dit onderzoek de gezondheid van andere katten kan bevorderen. Dit onderzoek zal leiden tot meer inzicht in de voedingsfactoren die de gezondheid van de kat beïnvloeden en kan zodoende bijdragen aan het optimaliseren van de voeding voor de kat teneinde de gezondheid te bevorderen.

Voor de onderzoekers geldt dat dit project kan bijdragen aan een goede wetenschappelijke reputatie en kan leiden tot nieuwe wetenschappelijke inzichten. Wetenschappelijke reputatie kan door de onderzoeker van belang geacht worden, maar dient naar de mening van de DEC geen rol te spelen in de ethische afweging over de toelaatbaarheid van het gebruik van proefdieren.

6. Er is geen sprake van substantiële milieueffecten.

Proefopzet en haalbaarheid

7. De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn voldoende gewaarborgd. Voor dit project is er samenwerking met een onderzoeksgroep die expertise heeft op het gebied van diervoeding. Deze onderzoeksgroep heeft ervaring met onderzoek van AGE's en voeding van gezelschapsdieren. Voor het meten van de AGE monsters is er samenwerking met een laboratorium gespecialiseerd in levensmiddelenchemie. De DEC is er daarom van overtuigd dat de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen beschikt om de projectdoelstelling met de gekozen strategie/aanpak binnen de gevraagde termijn te realiseren. De DEC is er bovendien van overtuigd dat de aanvrager gedurende het project zal kunnen en blijven voldoen aan de 3V-beginselen om te voorkomen dat teveel proefdieren zullen worden ingezet en dat ze onnodig nadeel zullen ondervinden van de experimenten.
8. Zoals bij C1 reeds vermeld, zal het onderzoek starten met een *in vitro/ex vivo* studie, waarbij in kattenbloed de invloed van exogene suikers op de vorming van endogene AGE's wordt bestudeerd. Vervolgens zullen er een tweetal *in vivo* studies plaatsvinden waarbij 1) het effect van dieetsuikers op de endogene vorming van AGE's en 2) het effect van dieet AGE's op de absorptie en uitscheiding van AGE's bestudeerd worden. Voor de *in vitro/ex vivo* studie zal bij een zestal katten 20 ml bloed worden afgenomen, waarna katten serum-albumine of rode bloedcellen worden geïncubeerd met verschillende types en concentraties van reducerende suikers (bijvoorbeeld glucose en fructose). Voor de *in vivo* studies zullen per studie 16 dieren gebruikt worden in een Latin Square design, bestaande uit 4 dieren en 4 verschillende diëten: drie test diëten en een controle dieet. Een dieetperiode (15-25 dgn) eindigt met het opvangen van urine. De dieren verblijven hiervoor 5 dagen solitair in een metabole kooi. Bij de dieren zal ook 5 keer bloed worden afgenomen: aan het begin van het experiment en na elke dieetperiode. Als uitleesparameter wordt de hoeveelheid serum AGE's gehanteerd. De DEC is derhalve van mening dat het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project.

Welzijn dieren

9. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren:

- Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)
- Niet-menselijke primaten (10e)
- Dieren in/uit het wild (10f)
- Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I EU richtlijn)
- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e lid 2)
- Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV EU richtlijn (13c lid 3)

De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd en de aanvrager voldoet aan de in de Wet op de dierproeven, voor de desbetreffende categorie, genoemde beperkende voorwaarden. De katten die gebruikt worden, zijn katten die op de instelling wonen en gebruikt worden voor diverse (voedings)experimenten of onderwijs met maximaal licht ongerief. Er zal een rustperiode van tenminste 14 dagen in acht worden genomen.

10. De dieren worden grotendeels gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de EU richtlijn, met uitzondering van 4 keer een periode van 5 dagen waarin de dieren in een metabole kooi worden geplaatst om urinemonsters te kunnen nemen.
11. Het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Als gevolg van een enkele de bloedafname is het ongerief voor zes dieren ingeschat als licht. Voor de overige voor de overige 32 dieren is het ongerief, als gevolg van 5x bloedafname en 4x individuele huisvesting in een metabole kooi, ingeschat als matig.
12. De integriteit van de dieren wordt in gedragsmatig opzicht aangetast. Door het solitair huisvesten in de metabole kooi wordt de dieren de mogelijkheid ontnomen om bepaalde aspecten van hun natuurlijk gedrag uit te oefenen (gedragsmatige aantasting).
13. Omdat er geen handelingen plaatsvinden die kunnen leiden tot een humaan eindpunt zijn er terecht geen humane eindpunten gedefinieerd.

3V's

14. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. De verwachting is dat de stofwisseling van eiwit-suikerverbindingen dermate complex is dat dit niet *in vitro* of *in silico* na te bootsen is. Om een volledig beeld te krijgen van de effecten van voeding op de stofwisseling van deze verbindingen zijn derhalve levende katten nodig.

15. Het aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en er is een heldere strategie om ervoor te zorgen dat tijdens het project met het kleinst mogelijke aantal dieren wordt gewerkt waarmee nog een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Voor het berekenen en zo laag mogelijk houden van het aantal benodigde dieren worden statistische methoden en een Latin Square design toegepast. In de proefopzet is ervoor gekozen om vier voedingen te testen, waarbij iedere kat alle voedingen gevoerd krijgt. Op deze manier kan iedere kat ook zijn eigen controle zijn, wat het aantal benodigde katten reduceert.
16. Het project is in overeenstemming met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project is zodanig opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Voor deze studie worden katten gebruikt omdat zij ook het doeldier zijn.
17. Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Dieren van beide geslachten zullen in gelijke mate worden ingezet.
19. De dieren worden niet gedood in het kader van het project.
20. Hergebruik is overwogen. De dieren gaan na afloop van het project weer terug naar het kattenverblijf van de instelling, omdat zonder meer aangenomen mag worden dat ze gezond blijven en geen blijvende schade lijden als gevolg van de experimenten.

NTS

21. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

1. De morele vraag die de DEC dient te beantwoorden is of het belang van dit onderzoek, gericht op het verkrijgen van meer inzicht in de stofwisseling van eiwit-suikerverbindingen bij katten en de rol die voeding speelt bij de beïnvloeding van deze stofwisseling, de onvermijdelijke aantasting van het welzijn en de integriteit van de gebruikte proefdieren kan rechtvaardigen.
2. Er vindt een beperkte aantasting van welzijn en integriteit van de proefdieren plaats, met licht ongerief voor een deel van de katten en matig ongerief voor de katten die herhaaldelijk in metabole kooien worden gehuisvest. Daar staat tegenover dat dit onderzoek belangrijke nieuwe fundamentele informatie kan geven en deze nieuwe informatie op korte termijn van substantieel belang kan zijn voor het doen van vervolgonderzoek naar de effecten van eiwit-suikerverbindingen op het optreden van chronische ouderdomsziekten bij de kat. De resultaten van dat vervolgonderzoek kunnen mogelijk een antwoord geven op de vraag in hoeverre eiwit-

suikerverbindingen bijdragen aan het ontstaan van oudersomziekten bij de kat en op basis van die resultaten kunnen katteneigenaren beter voorgelicht worden over welke voeding goed is voor hun kat. De DEC kent daar veel gewicht aan toe.

Chronische oudersomziekten zoals diabetes en nierfalen, komen steeds vaker voor bij katten en kunnen leiden tot aanzienlijke, soms letale, gezondheidsklachten. Indien de hierboven genoemde doelstellingen behaald worden, dan zal dit project er toe bijdragen dat katten betere, gezondere voeding krijgen. Katten die als huisdier worden gehouden zijn er dus bij gebaat dat met dit fundamentele project een basis gelegd wordt voor het verkrijgen van meer inzicht in de gezondheidseffecten van eiwit-suikerverbindingen in kattenvoeding.

Het is aannemelijk dat de doelstelling behaald zal worden. Daarvoor is de inzet van proefdieren noodzakelijk, maar de onderzoekers doen al het mogelijke om het ongerief voor de dieren en het aantal dieren tot een minimum te beperken. De dieren zullen wel ongerief ervaren, maar geen schade oplopen en kunnen na afloop zonder bezwaar weer teruggeplaatst worden in de kattenkolonie waar zij ook vandaan worden gehaald. Dat het voor de individuele onderzoeker van belang kan zijn om aansprekende onderzoeksresultaten te boeken is juist, maar in de uiteindelijke afweging kent de DEC daar weinig gewicht aan toe.

3. Op grond van het bovenstaande is de DEC van oordeel dat het verkrijgen van meer inzicht in de stofwisseling van eiwit-suikerverbindingen bij katten en de rol die voeding daarbij speelt een substantieel belang vertegenwoordigt en dat dit substantiële belang opweegt tegen de beperkte aantasting van het welzijn en de integriteit van de proefdieren. Het gebruik van de proefdieren zoals beschreven in de aanvraag is daarmee gerechtvaardigd.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden.

De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.
3. Er zijn geen knelpunten/dilemma's naar voren gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies.



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht

[REDACTED]

Postbus 12007

3501 AA UTRECHT



**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

AVD108002017852

Bijlagen

1

27 FEB 2017

Datum 24 februari 2017

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 31 januari 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Relevance of Advanced Glycation Endproducts in feline Nutrition" met aanvraagnummer AVD108002017852. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet).

U kunt met uw project "Relevance of Advanced Glycation Endproducts in feline Nutrition" starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 maart 2017 tot en met 1 september 2020.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC Utrecht gevoegd. Dit advies is opgesteld op 30 januari 2017. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Dit advies van de commissie nemen wij over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

Het DEC-advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Datum:

24 februari 2017

Aanvraagnummer:

AVD108002017852

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 dezer

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: Universiteit Utrecht
Adres: Postbus 12007
Postcode en plaats: 3501 AA UTRECHT
Deelnemersnummer: 10800

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 maart 2017 tot en met 1 september 2020, voor het project "Relevance of Advanced Glycation Endproducts in feline Nutrition" met aanvraagnummer AVD108002017852, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC Utrecht. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Assistant professor. De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 31 januari 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 31 januari 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 31 januari 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 30 januari 2017, ontvangen op 31 januari 2017.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1 Relevance of Advanced Glycation End-products in feline nutrition				
	Katten (Felis catus) / volwassen europese korthaar katten	38	84% Matig 16% Licht	



Aanvraagnummer:
AVD108002017852

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 verdooving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdooving 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 verdooving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdooving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdooving 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 verdooving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn

Aanvraagnummer:

AVD108002017852

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.