

[illegible]

22 MAART 2016

ARD 105002016487



Centrale Commissie Dierproeven

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>	☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in	10500
		☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Rijksuniversiteit Groningen
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	
		KvK-nummer	01179037
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	A. Deusinglaan 1,
		Postbus	
		Postcode en plaats	9713AV Groningen
		IBAN	NL80ABNA0446049352
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Rijksuniversiteit Groningen
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	☒ Dhr. ☐ Mw.
		Functie	
		Afdeling	
		Telefoonnummer	
		E-mailadres	
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	☒ Dhr. ☐ Mw.
		Functie	
		Afdeling	
		Telefoonnummer	
		E-mailadres	

- 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 | ☐ Dhr. ☐ Mw. |
| Functie | |
| Afdeling | |
| Telefoonnummer | |
| E-mailadres | |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- | | |
|--|---|
| ☒ Ja | > Stuur dan het ingevulde formulier <i>Melding Machtiging</i> 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 | 01 - 04 - 2016 |
| Einddatum | 31 - 03 - 2021 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Onderzoek naar therapeutische middelen om de vicieuze cyclus van hartfalen progressie te doorbreken
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Onderzoek naar therapeutische middelen om de vicieuze cyclus van hartfalen progressie te doorbreken
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|------------------------------|
| Naam DEC | DEC-RUG |
| Postadres | A. Deusinglaan 1, [REDACTED] |
| E-mailadres | secredec.umcg@umcg.nl |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?
- ☒ Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1584,- Lege
- ☐ Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
- ☐ Via een eenmalige incasso
- ☐ Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*

5 Checklist bijlagen

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

6 Ondertekening

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

Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende verklaart:

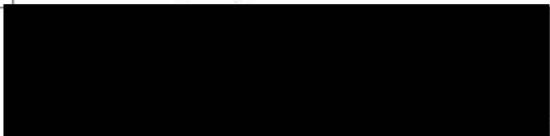
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
- dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
- dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
- dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam 

Functie 

Plaats Groningen

Datum 21-03-2016

Handtekening 



Format

Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- | | |
|--|---|
| 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. | <u>10500</u> |
| 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. | <u>Rijksuniversiteit Groningen</u> |
| 1.3 Vul de titel van het project in. | <u>Onderzoek naar therapeutische middelen om de vicieuze cyclus van hartfalen te doorbreken</u> |

2 Categorie van het project

- | | |
|--|---|
| 2.1 In welke categorie valt het project. | <u>X Fundamenteel onderzoek</u> |
| | <u>X Translationeel of toegepast onderzoek</u> |
| <i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i> | ☐ Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie |
| | ☐ Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier |
| | ☐ Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort |
| | ☐ Hoger onderwijs of opleiding |
| | ☐ Forensisch onderzoek |
| | ☐ Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven |

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

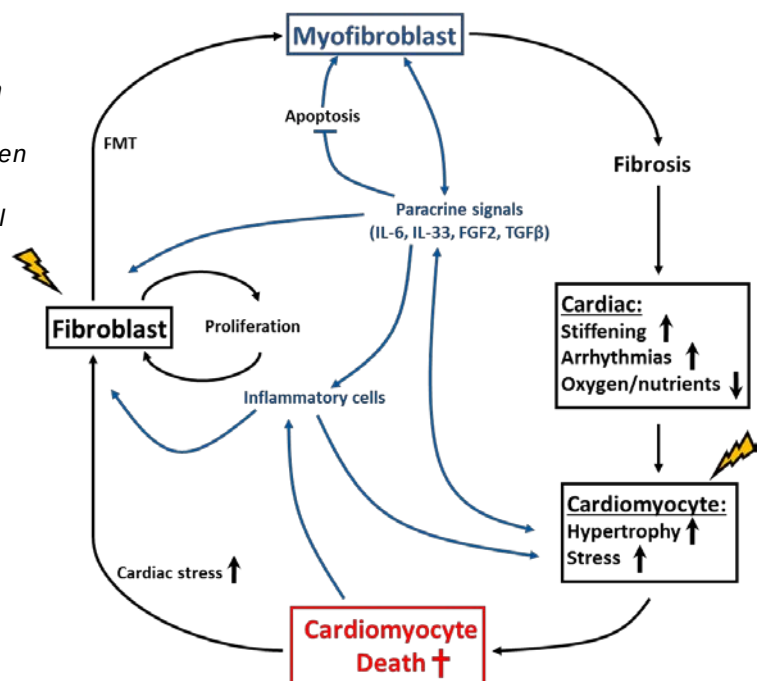
Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hogere onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

De diagnostische methoden en de behandelingsopties voor cardiovasculaire (CV) ziektes zijn de afgelopen decennia sterk verbeterd en de mortaliteit ten gevolge van CV ziektes is daardoor gestaag afgenomen. Ondanks deze successen zijn de sterftcijfers nog steeds aanzienlijk en kan er nog veel verbeterd worden. Hartfalen is vaak het pathologische eindsyndroom van de meeste andere cardiovasculaire aandoeningen, zoals een hartinfarct, hoge bloeddruk, coronair lijden en kleplijden. Bij hartfalen is het hart niet meer in staat om het lichaam op een adequate manier van bloed te voorzien. Dit heeft ernstige klachten tot gevolg en patiënten met hartfalen hebben een slechte prognose, waarbij 50% van alle patiënten binnen 5 jaar na diagnose overlijden [1]. Het sterftcijfer voor hartfalen is de laatste decennia nagenoeg constant gebleven [2]. Dit betekent niet dat er geen verbeteringen zijn geweest in de behandeling, maar dit is een paradoxaal gevolg van de betere behandeling van andere CV ziektes en de verouderende populatie.

Structurele en functionele veranderingen in het hart, zgn. cardiale remodelering, liggen ten grondslag aan het ontwikkelen van hartfalen [3-5]. Deze veranderingen worden geïnduceerd door cardiale stress factoren, zoals hypertensie en coronair lijden. Een drietal processen spelen een voorname rol in cardiale remodelering (figuur 1). Allereerst pathologische hypertrofie (groei) van cardiomyocyten (hartspiercellen), waarbij een metabole switch optreedt en de cardiomyocyt functie verslechtert en cel dood optreedt, resulterend in verminderde hartfunctie. Ten tweede vinden er extracellulaire matrix veranderingen plaats, waaronder bindweefsel vorming (fibrotisering), wat leidt tot verstijving van het hart en verslechterde nutriënt en zuurstof toevoer naar de cellen in het hart. De derde component in hartfalen betreft een inflammatoire respons die sterk geassocieerd is met fibrose. Pathologische hypertrofie stimuleert zowel de inflammatoire respons als cardiale fibrotisering die op hun beurt cardiomyocyt stress verhogen en hypertrofie verder versterkt. Deze drie processen vormen dus een vicieuze cirkel die zichzelf in stand kan houden (figuur 1) [6]. Als dit proces eenmaal in gang gezet is, is het wegnemen van alleen de initiële stress factoren ontoereikend om verdere progressie van hartfalen te voorkomen. Helaas beperkt de huidige therapie zich echter tot het aanpakken van de initiële stress factoren, zoals hypertensie en neurohormonale (o.a. adrenerge) activatie (d.m.v. angiotensin-converting enzyme (ACE), mineralocorticoid receptor antagonisten (MRAs) en bètablokkers). Alhoewel deze therapeutische middelen de progressie van hartfalen kunnen remmen, zijn ze niet in staat om het ziekteproces te stoppen. Naast deze therapie zal het dus noodzakelijk zijn om targets te identificeren en middelen te vinden die de vicieuze cirkel kunnen doorbreken. Ons onderzoek richt zich dan ook op drie processen van deze vicieuze cirkel: hypertrofie, fibrose en inflammatie.

Figure 1. De vicieuze cirkel van fibrose en cardiomyocyt hypertrofie, resulterend in cardiomyocyt cel dood en verdere activatie van fibroblasten tot myofibroblasten en daardoor verdere fibrotisering. Inflammatoire processen binnen deze cirkel spelen hierbij een belangrijke rol. De gele weerlichten geven de initiële stress factoren aan. Voor verdere details zie Piek et al. [6]. Overgenomen uit [6].



Pathologische hypertrofie kenmerkt zich door een zgn. “return tot he fetal gene program” Hierbij komen genen die normalerwijze in het ontwikkelende foetale hart tot expressie komen weer tot expressie in het “zieke” adulte hart. Hierdoor vindt ook een metabole switch plaats waarbij het adulte hart overgaat van met name vetzuur metabolisme naar koolhydraat metabolisme. Deze switch kan leiden tot metabool stapeling (glycogeen, lipiden) mitochondriale dysfunctie, zuurstof radicaal productie en verlaagde ATP niveaus. Wij hebben laten zien dat

[REDACTED]

Tezamen met studies van anderen lijkt het erop dat name het verlies van metabole plasticiteit van cardiomyocyten schadelijk is voor het hart en dat studies nodig zijn om de metabole fluxen beter te begrijpen en gericht te kunnen moduleren.

Extra cellulaire matrix remodelering speelt een belangrijke rol bij verstijving en dilatatie van het hart en dus verslechtering van de hartfunctie. Alhoewel mineralocorticoid receptor antagonist (MRAs) ook een remmende werking op fibrose hebben zijn er op dit moment geen specifieke fibrose remmende middelen die voor hartfalen gebruikt worden. Wij en anderen hebben laten zien dat

[REDACTED]

Infiltratie van inflammatoire cellen zoals neutrofielen en macrofagen vindt niet alleen plaats na een infarct, maar ook tijdens cardiale remodelering. Inflammatie speelt dan ook een belangrijke rol bij hartfalen ontwikkeling en stoffen uitgescheiden door deze immuun cellen stimuleert zowel hypertrofie als fibrose.

[REDACTED]

Inhibitie van de infiltratie en activatie van deze inflammatoire cellen en de producten die ze genereren is dus een belangrijke spil in het doorbreken van dit vicieuze proces.

Ons onderzoek richt zich op het onderzoeken van mechanismen en nieuwe therapieën die de ontwikkeling van hartfalen kunnen remmen. Hierbij richten we ons op de hierboven beschreven targets en processen, waarbij we proberen de vicieuze cyclus van verslechtering van de hartspeer te onderbreken. Daarnaast onderzoeken we of therapie op bestaande aangrijpingspunten verder verbeterd kan worden. Een goede therapie zal dus moeten bestaan uit een combinatie van stoffen die aan de ene kant de initiële stress factoren weg nemen en aan de andere kant ingrijpen op de sleutelprocessen van de vicieuze cirkel [6]. Daarom zullen uiteindelijk combinaties van stoffen getest moeten worden.

Voor onze studies zijn dierproeven onontbeerlijk, omdat alleen in een dier structurele orgaan veranderingen en hartfunctie parameters bepaald kunnen worden. Daarnaast zijn hemodynamische parameters, neurohormonale invloeden en ontstekingsprocessen belangrijke factoren die tot cardiale remodelering aanzetten, en die niet goed buiten het lichaam nagebootst kunnen worden. We verwachten

dat onze resultaten inzicht geven in welke aangrijpingspunten (targets) medicamenteus aangepakt kunnen worden voor het behandelen van hartfalen. We hopen hierbij dit uiteindelijk zal resulteren in verbeterde therapie voor hartfalen patiënten. Gezien de aard van de ziekte en het grote aantal mensen die deze ziekte krijgt achten wij het verantwoord om dit in dieren te onderzoeken.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Doel: Het verbeteren van huidige hartfalen therapie door middel van medicamenteuze ingrijpen op specifieke processen van de viciuze hartfalen cyclus.

Hierbij kunnen een aantal sub vragen gedefinieerd worden:

- Welke medicamenteuze aangrijpingspunten kunnen fibrose in het hart remmen en hartfunctie verbeteren onder pathologische condities?
- Welke metabool gerelateerde interventies kunnen cardiomyocyt hypertrofie verminderen en hartfunctie verbeteren onder pathologische condities?
- Welke medicamenteuze aangrijpingspunten kunnen inflammatie in het verminderen onder pathologische condities en hartfunctie verbeteren?
- Kunnen deze behandelingen een beter inzicht geven in de complexe onderlinge verwevenheid van deze processen in het hart?
- Zijn combinatie therapieën beter in staat de progressie van hartfalen te remmen?

We hebben uitgebreide expertise in het onderzoeken van cardiale remodelering en hartfalen in kleine proefdieren (muis en rat). Binnen ons centrum kunnen we hartfunctie in kleine proefdieren in detail onderzoeken met o.a. elektrocardiogram (ECG), echocardiografie (ECHO), magnetic resonance imaging (MRI), positron emissie tomografie (microPET) en druk/volume metingen (P/V katheter). Daarnaast hebben we een breed scala aan (immuno)histochemische en moleculaire technieken tot onze beschikking om structurele veranderingen te onderzoeken.

We hebben ervaring met het onderzoeken naar de effecten van medicamenteuze behandelingen op hartfalen progressie, waarbij in de laatste jaren metabool gerelateerde interventies in muis en rat zijn uitgevoerd en de effecten op hypertrofie bestudeerd [12-16]. Ons onderzoek richt zich nu met name op

Voor het induceren van cardiale remodelering hebben we meerdere methodes beschikbaar. Dit betreffen ischemische modellen d.m.v. (tijdelijke) afbinding van de coronair arterie, linker ventrikel druk belasting modellen d.m.v. een constrictie van de aorta en neurohormonale modellen door toediening van neurohormonale stoffen. Voor het uitvoeren van deze specialistische ingrepen hebben we een zeer ervaren biotechnicus op onze afdeling en het centraal dierproef laboratorium (CDL) heeft een microchirurgisch team dat ons hierin bijstaat.

Dankzij deze expertise en apparatuur kunnen we therapeutische behandelingen van hartfalen nauwkeurig onderzoeken in proefdieren. Dit kan leiden tot nieuwe behandelingsmethoden en zal tevens nieuwe inzichten in de moleculaire en cellulaire mechanismen geven die ten grondslag liggen aan hartfalen ontwikkeling.

3.3 Belang

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

Hartfalen is een syndroom met hoge prevalentie en tussen de 20% en 30% van de Nederlanders krijgt in zijn leven te maken met hartfalen. Patiënten met hartfalen hebben nog steeds een slechte prognose en ca. 50% van alle patiënten overlijdt binnen 5 jaar na de eerste diagnose. Door de toenemende vergrijzing en een toename van de risicofactoren zoals obesitas en diabetes is de verwachting dat het aantal hartfalen patiënten eerder toeneemt dan afneemt. We hebben in de afgelopen decennia een steeds beter inzicht in het syndroom hartfalen gekregen en in de laatste jaren zijn de moleculaire en cellulaire processen die aan hartfalen ten grondslag liggen gedetailleerd in kaart gebracht. Hierbij is het ook duidelijk geworden dat we hartfalen progressie alleen kunnen stoppen als we de vicieuze cyclus van pathologische hypertrofie en fibrose kunnen stoppen. Medicamenteuze behandelingsstrategieën die op meerdere punten van deze cyclus aangrijpen moeten daarvoor geïdentificeerd en getest worden. Het doel hierbij is om hartfalen patiënten uiteindelijk een betere behandeling te kunnen geven.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Er zullen medicamenteuze aangrijpingspunten onderzocht worden tegen de besproken hartfalen processen, te weten: fibrose, hypertrofie (met een focus op metabole interventie) en inflammatie. Door stoffen te kiezen tegen specifieke targets in deze processen hopen we te kunnen laten zien dat bepaalde pathways in deze processen geschikt zijn voor hartfalen interventie. Daarnaast hopen we door het gebruik van deze stoffen meer inzicht te krijgen in de dynamiek en reversibiliteit van de processen. Dit laatste is moeilijk uit te voeren d.m.v. genetische manipulaties, omdat dit meestal (conditionele) aan of uit systemen zijn.

Afhankelijk van het aangrijpingspunt van de medicamenteuze stof zullen we een bepaald hartfalen diermodel kiezen (muis of rat). Zo zullen anti-fibrotische middelen met name getest worden in een hartfalen model waarin fibrose een voorname rol speelt (bijv. bij druk overbelasting) terwijl een anti-inflammatoir middel eerder getest zal worden in een hartfalen model waar de inflammatoire respons een belangrijke rol speelt (zoals bij ischemie). Doorgaans zullen hierbij vier groepen dieren worden gebruikt (controle+placebo; controle+medicament; hartfalen+placebo; hartfalen+medicament), maar dit kan eventueel uitgebreid worden als er extra doses getest moeten worden. De groepsgrootte zal afhankelijk zijn van het te kiezen primaire eindpunt (bijv. mate van hypertrofie of fibrose of verandering in ejectie fractie (EF)) en het te verwachten effect. Het effect van de behandeling op hartfalen ontwikkeling zal o.a. niet invasief bepaald worden d.m.v. bijv. ECHO of MRI. Daarnaast kunnen metabole aanpassingen met de microPET onderzocht worden. Aan het eind van het experiment zullen hemodynamische metingen worden verricht, waarna de dieren getermineerd worden en het hart en eventuele andere organen en weefsels op histologisch en moleculair niveau geanalyseerd worden.

Afhankelijk van de resultaten zal de desbetreffende studie opgevolgd worden met andere dierstudies om additioneel bewijs te verkrijgen. Belangrijk hierbij is dat ook een ander hartfalen model wordt gebruikt om aan te tonen dat het effect niet model specifiek is. Tevens kan hierbij gedacht worden om een muis studie in ratten te herhalen en vice versa om soort specifieke effecten uit te sluiten. Uiteindelijk hopen we dat deze dierstudies er toe zullen leiden dat ons inzicht in deze dynamische processen verbeterd en dat een verder translationeel traject richting de kliniek gekozen kan worden voor bepaalde stoffen.

We verwachten gemiddeld ca. 4 stoffen per jaar te kunnen testen.

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

De keus van medicamenteuze middelen die we gaan testen is afhankelijk van een aantal factoren en kan in een drietal subdomeinen worden ingedeeld.

[Redacted text block]

[Redacted text block]

[Redacted text block]

Zoals hierboven reeds aangeduid kunnen we deze stoffen in een 4-tal proefdiermodellen van hartfalen onderzoeken die klinische relevantie hebben, te weten:

1. **Druk overbelasting model** (bijlage 3.4.4.1).

Humane situatie: Komt overeen met bijv. humane aorta stenose.

Resulteert in: Concentrische hypertrofie, lichte/matige fibrose en uiteindelijk dilatatie

In dit muis/rat model wordt de aorta enigszins afgeknepen.

Bij thoracale aorta constrictie (TAC) wordt er een bandje gelegd om de transverse aorta

waardoor linker kamer drukbelasting wordt gegenereerd [17] In het geval van een abdominale constrictie wordt vooral het renine angiotensine systeem (RAS) geactiveerd [16], wat leidt tot bloeddruk aanpassingen en directe effecten van angiotensin II (Ang-II) op het hart.

2. **Ischemisch model** (bijlage 3.4.4.2)

Humane situatie: Komt overeen met een humaan infarct model

Resulteert in: Cardiomyocyt cel dood en inflammatoire reacties gevolgd door sterke fibrotisering en excentrische hypertrofie.

In dit muis/rat ischemisch hartfalen model wordt een coronair arterie permanent dan wel tijdelijk afgebonden. Structurele remodelering speelt in dit model een grote rol en leidt uiteindelijk tot een duidelijk verlaagde linker ventrikel ejectie fractie ([13,15,18]).

3. **(Neuro)hormonaal model** (bijlage 3.4.4.3).

Humane situatie: (neuro)hormonale activatie speelt een belangrijke rol in de ontwikkeling van humaan hartfalen.

Resulteert in: AngII geeft sterke fibrose en concentrische hypertrofie. Adrenerge stimulatie geeft sterke hypertrofie en cel dood.

In het muis/rat (neuro)hormonale model kan via injectie of implantatie van een osmotische minipomp de (neuro)hormonale activatie kunstmatig verhoogd resulterend in hartfalen. Hierbij moet gedacht worden aan adrenerge stimulatie middels isoproterenol of phenylephrine of stimulatie van angiotensine II (Ang-II) receptoren middels infusie van Ang-II .. Dit maakt het mogelijk om naar specifiek gestuurde (neuro)hormonale hartfalen vorming te kijken.

4. **Life style model** (bijlage 3.4.4.4).

Humane situatie: Life style factoren zoals, Westers dieet, en leeftijd zijn belangrijke risico factor voor de ontwikkeling van hartfalen.

Resulteert in: Metabool syndroom induceert cardiale hypertrofie en uiteindelijk fibrose.

In dit muis/rat model moet geacht worden aan sedentary life style t.o.v. actief (loopwiel), metabool syndroom (bijv. Westers dieet en diabetes type II), eventueel in relatie met veroudering (bijlage 3.4.4.4). Dit model kan eventueel met één van de drie bovenstaande modellen worden gecombineerd om de humane situatie verder na te bootsen.

Zoals beschreven zal het te kiezen model sterk afhankelijk zijn van de stof en pathway die onderzocht gaat worden.

Om het effect van de medicamenteuze stof op cardiale remodelering en hartfalen ontwikkeling te bepalen staan ons meerdere technieken ter beschikking. Niet invasieve technieken met apparatuur speciaal ontworpen voor kleine proefdieren zijn. o.a. het ECG, ECHO en MRI (9.4 Tesla Bruker). Daarnaast kan de microPET gebruikt worden om o.a. het veranderd metabolisme tijdens hartfalen te analyseren (bijv. met ¹⁸F-FDG). Bij terminatie kunnen tevens druk/volume (P/V) metingen in het hart en aorta worden uitgevoerd middels muis of rat P/V catheters. Eventueel kan er ook voor gekozen worden om het hart na terminatie van het (on)behandelde dier middels Langendorff techniek verder te onderzoeken.

Naast functionele studies zal het essentieel zijn om de cellulaire en moleculaire veranderingen in het hart te bestuderen. Hartweefsel van deze dieren zal daartoe aan het eind van het experiment worden onderzocht m.b.v. (immuno)histochemie (o.a. fibrotisering, cel grootte, ontstekingsreacties) en op moleculair niveau d.m.v. Western blotting, gen expressie analyse en pathway analyse (o.a. gene ontologie, KEGG analyse) en andere technieken. Dit kan ons verder inzicht geven in de processen die onder invloed staan van het desbetreffende target en eventuele nieuwe aangrijpingspunten aanleveren.

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

In dit dier onderzoek zullen we targets en pathways onderzoeken door middel van toedienen van medicamenteuze stoffen die specifiek hiertegen gericht zijn en waarvan we verwachten dat ze progressie van cardiale remodelering en hartfalen kunnen remmen. Zoals vermeld, betreft het hier targets en pathways die op drie processen effect kunnen hebben namelijk: 1) fibrose, 2) hypertrofie (focus op metabolisme) en 3) inflammatie. Voor dit onderzoek gebruiken we stoffen die we zelf ontwikkelen tegen specifieke targets en stoffen die uit andere onderzoeken en samenwerkingen ter beschikking komen. Dit onderzoek is een doorlopend proces en we verwachten dat het onderzoek van deze stoffen resulteert in betere inzichten en identificatie van eventuele nieuwe targets. Eventueel kunnen meerdere stoffen tegelijkertijd onderzocht worden. Het traject wat gevolgd zal worden zal er doorgaans als volgt uitzien:

Fase 1:

Gebaseerd op o.a. het proces waarop de stof aangrijpt, het primaire eindpunt en de te verwachten effectgrootte, zal een hartfalen model worden gekozen waarin deze stof het beste onderzocht kan worden. Een gemiddeld hartfalen proefdierexperiment duurt ca. 8 weken, daarna dienen functionele data te worden uitgewerkt en moleculaire en histologische analyses te worden uitgevoerd. (ca. 8 weken). Vanaf de start van het experiment zal het ca. 16 weken duren voordat voorlopige conclusies getrokken kunnen worden. Indien wenselijk zullen de toediening van de stof gefaseerd uitvoeren. We wijzen er op dat we tijdens deze studies ook in de gaten zullen houden dat de toegediende stof geen ander ongerief veroorzaakt. Indien gedrag/orgaan/weefsel veranderingen worden opgemerkt die eventueel met de toegediende stof geassocieerd kunnen worden zal dit natuurlijk vastgelegd worden en kan dit eventueel betekenen dat verder onderzoek met deze stof niet wenselijk is of aangepast moet worden.

Beslismoment 1:

- A. Indien het target goed geremd wordt en er verbetering in hartfunctie en/of cardiale structuur te zien zijn, kan dit als mijlpaal gezien worden, en zullen de cellulaire en moleculaire veranderingen verder onderzocht worden om beter inzicht in het onderliggende proces te verkrijgen. Dit zal doorgaans ook betekenen dat we overgaan naar fase 2 van het onderzoek.
- B. Indien er geen effecten van de stof op hartfunctie of cardiale structuur te zien zijn zal verder proefdieronderzoek naar dit middel/target vooreerst niet zinvol zijn. In dat geval zal eerst vanuit de voorliggende studie naar mogelijke oorzaken worden gezocht, zoals mate van remming en mogelijke activatie van compensatoire mechanismen.

Fase 2:

Indien een positief resultaat (vermindering van hartfalen) in de eerste studie behaald wordt zal ter bevestiging het onderzoek herhaald worden in een tweede hartfalen proefdiermodel. Door een ander model te kiezen kan tevens bewezen worden dat het gevonden effect niet diermodel specifiek is. Als voorbeeld verwijzen we hiervoor naar onze [REDACTED]

Beslismoment 2:

- A. Indien ook in dit tweede model verbetering in hartfunctie en/of cardiale structuur te zien is zal verder proefdieronderzoek onderzoek wenselijk zijn. Dit is een belangrijke mijlpaal, omdat nu in twee onafhankelijke studies met verschillende modellen een effect is aangetoond.
 - B. Indien er geen effecten van de stof op hartfunctie of cardiale structuur te zien zijn zal verder proefdieronderzoek naar dit middel/target vooreerst niet zinvol zijn. In dat geval zal eerst vanuit de voorliggende studies onderzocht worden waardoor de verschillen veroorzaakt kunnen worden. Dit kan ook interessante nieuwe inzichten geven in dit complexe syndroom. Indien mogelijke aanwijsbare oorzaken gevonden kunnen worden zal eventueel verder proefdieronderzoek ter
-

sprake komen.

Fase 3:

Een positief resultaat (vermindering van hartfalen) uit de voorgaande studies betekent een grote sprong voorwaarts. In de kliniek wordt nieuwe medicatie nagenoeg altijd op al bestaande therapie getest. Het zal dan ook noodzakelijk zijn om te onderzoeken of de nieuwe stof ook effectiviteit laat zien bovenop bestaande medicatie bovenop. Dit is een translationele stap die vaak wordt overgeslagen, maar zeer belangrijk is voor verder klinische ontwikkeling. Daarnaast kunnen we onder deze condities laten zien dat het remmen van de vicieuze pathologische cirkel additionele verbetering geeft bovenop het weghalen van de initiële stress factoren. Afhankelijk van het diermodel zal hierbij onderzoek worden gedaan in aanwezigheid van bijv. Ace remmers, ARBs en/of MRAs. Omdat de effectgrootte hierdoor zal afnemen zijn waarschijnlijk grotere groepen nodig die langer gevolgd dienen te worden. Deze studies zijn van wezenlijk belang om te bewijzen dat ons model juist is en dat deze extra component nodig is voor een succesvolle klinische behandeling van hartfalen.

Beslismoment 3:

- A. Indien ook onder deze condities verdere verbetering in hartfunctie en/of cardiale structuur te zien is hebben we een zeer belangrijke mijlpaal gehaald. Hierbij hebben we niet alleen in een derde onafhankelijke studie, maar ook effectiviteit in de aanwezigheid van andere medicamenten bewezen. In dit stadium zal er nagedacht moeten gaan worden over proefdier studies met grote proefdieren of directe translatie naar de kliniek. Dit valt echter buiten het bestek van dit project voorstel.

Fase 4:

Metabool syndroom en leeftijd zijn belangrijke risico factoren voor hartfalen. We achten het dan ook van belang dat ons onderzoek ook op een achtergrond met tenminste één van deze risicofactoren getest kan worden eventueel in combinatie van één van de andere hartfalen inducerende behandelingen. Stoffen die metabole effecten hebben zouden bijv. ook in een achtergrond met metabool syndroom getest moeten worden. Alhoewel dit als fase 4 staat aangemerkt zou het voor sommige stoffen wenselijk kunnen zijn om dit in een eerder stadium uit te voeren.

Beslismoment 4:

- A. Indien in dit model verbetering in hartfunctie en/of cardiale structuur te zien is, is hierbij aangetoond dat deze stof ook in aanwezigheid van belangrijke negatieve life style factoren positieve effecten kan bewerkstelligen. Dit is een belangrijke mijlpaal, omdat deze factoren een belangrijke rol in latere klinische studies zullen hebben.

Een positief resultaat (verbetering van hart functie, verminderde remodelering) in een dierstudie is een mijlpaal. Hierbij is met name een positief resultaat na de tweede studie (fase 2) van groot belang, omdat dan in twee onafhankelijke studies en modellen een positief resultaat behaald is. Op dat moment kunnen we dus ook vaststellen dat het aangrijpingspunt (het moleculaire target) een goed target is voor therapie en dat wellicht ook andere aangrijpingspunten in dezelfde pathway als mogelijke targets kunnen dienen. Daarnaast zal in fase 3 kunnen worden aangetoond het aangrijpen van dit target de vicieuze cirkel kan doorbreken in de aanwezigheid van standaard medicatie gericht op de initiële stress factoren. Dit zal ons huidige idee van de vicieuze hartfalen cirkel kunnen bevestigen en laten zien dat het noodzakelijk is deze cirkel te doorbreken om hartfalen progressie uiteindelijk te kunnen stoppen. Verdere translatie richting de kliniek zal dan gemaakt kunnen worden.

References

[1] Zannad F, Briancon S, Juilliere Y, Mertes PM, Villemot JP, Alla F et al. Incidence, clinical and etiologic features, and outcomes of advanced chronic heart failure: the EPICAL Study. Epidemiologie de

l'Insuffisance Cardiaque Avancee en Lorraine. J Am Coll Cardiol 1999;33:734-42.

[2] Authors/Task Force Members, McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Bohm M et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. Eur Heart J 2012.

[3] MacRae CA. The genetics of congestive heart failure. Heart Fail Clin 2010;6:223-30.

[4] Hill JA, Olson EN. Cardiac plasticity. N Engl J Med 2008;358:1370-80.

[5] Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. J Am Coll Cardiol 2000;35:569-82.

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Cardiall druk belastings model
2	Cardiaal ischemie model
3	(Neuro)hormonaal model
4	Life style model
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	10500	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Rijksuniversiteit Groningen	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		3.4.4.2	Cardiale ischemie

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Een van de oorzaken van hartfalen is cardiale remodeling als gevolg van een hartinfarct. De ischemische periode kan hierbij permanent zijn of tijdelijk zoals het geval is bij dotteren, waarbij het vat van de patient weer wordt opengemaakt. Ischemie is dus een belangrijke oorzaak van hartfalen ontwikkeling bij mensen. Bij cardiale ischemie vindt eerst cel dood plaats dat gevolgd wordt door een inflammatoire reactie en zgn. replacement fibrose. In het niet aangedane hartweefsel vindt vervolgens remodelering plaats met verder gaande fibrose en met excentrische hypertrofie dat resulteert in een dilaterend hart. Bij het testen van behandelingsmethodes tegen deze vorm van hartfalen in diermodellen zal met name de hartfunctie een primaire uitkomst maat zijn. Secundair hierbij zijn de structurele veranderingen waaronder hypertrofie en fibrose.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Tijdens een chirurgische ingreep wordt een de linker kransslagader geligeerd met een hechting. Dit geeft een verandering van kleur van het infarctgebied (het gebied 'at risk'). Deze hechting blijft permanent aanwezig of wordt na een vooraf vastgestelde tijd (meestal tussen de 30-60 minuten) weer verwijderd. Technisch falen hierbij ligt tussen de 10-30%. Het bijkomen uit narcose en de pijn aan de wond en de ontwikkeling van een verminderde hartfunctie geeft matig ongerief, het ongerief wordt beperkt door gebruik van pijnstilling. Afhankelijk van de vraagstelling kunnen de dieren uren tot dagen (directe effecten van ischemie/reperfusie) of tot 20 weken worden gevolgd (late remodelering). Tijdens deze vervolg periode kan de hartfunctie en remodelering middels niet invasieve methodes gemonitord worden.

Medicamenteuze behandeling kan voor de operatie beginnen direct na de operatie of nadat cardiale remodeling is begonnen (om mogelijk reversibiliteit te bestuderen). De frequentie en aard van de

behandeling is afhankelijk van de aard van de medicamenteuze stof en zijn farmacologische eigenschappen. Verschillende toedieningsvormen kunnen gebruikt worden: oraal via voer of drinkwater; gavage; via IP, IV, subcutane of intramusculaire injecties of via een osmotische minipomp. Indien mogelijk zal de toediening gekozen worden waarbij het ongerief voor de dieren zo laag mogelijk is, maar waarbij de gekozen dosering wel met redelijke zekerheid gewaarborgd is. Vehicle controles worden gebruikt en bevatten alleen het oplosmiddel van de stof. Deze controle dieren zullen net zo vaak gehanteerd worden en behandeld als de dieren die wel de werkzame stof krijgen.

Afhankelijk van de vraagstelling kunnen de dieren tot ca. 20 weken na aanvang van medicatie gevolgd worden. Cardiale functie kan tijdens deze periode op meerdere momenten in de tijd niet invasief worden bepaald aan geanestheerde dieren d.m.v. ECG, ECHO, MRI en in speciale gevallen m.b.v. microPET. De laatste is interessant indien metabole afwijkingen verwacht of geïdentificeerd worden. Het totaal van de niet invasieve methode zal doorgaans niet vaker dan 15 maal aan dezelfde muis worden uitgevoerd. Eventueel kunnen bloedmonsters genomen worden voor biomarker analyse. Dit zal gebeuren via de staart of orbita met een max. van <10% van het circulerend volume per twee weken. Voorafgaande aan het offeren van de dieren zullen doorgaans met een katheter P/V metingen worden uitgevoerd aan het geanestheerde dier, die vervolgens onder anesthesie geëuthanaseerd wordt. Indien continue bloeddruk metingen van belang zijn kan eventueel telemetrie worden toegepast. Alternatief kan telemetrie worden toegepast. Op deze manier kunnen we het effect van de medicatie op hartfunctie en welzijn van de dieren goed monitoren. Daarnaast kunnen dieren voor maximaal 24 uur in een metabolisme kooi gehuisvest worden voor het opvangen van feces en urine voor de bepaling van o.a. de renale functie (i.v.m. associatie van hartfalen en renale functie).

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

Voor de meeste primaire uitkomst maten hebben we een standaard deviatie en kunnen we een te verwachten effectgrootte voorspellen. Door middel van powercalculaties kunnen daarmee het aantal dieren beperkt

B. De dieren

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

Diersoorten: ratten en muizen.

Herkomst: Aankoop van commerciële leveranciers of andere instellingen, via samenwerkingsverbanden, dan wel eigen fok.

Aantallen en levensstadia: Volwassen dieren. Per jaar verwachten we 4 ischemie/reperfusie experiment uit te voeren. Het zal dan om ca. 4 groepen (inclusief sham en placebo) x 25 dieren (enigszins afhankelijk van primaire uitkomstmaat en rekening houdende met uitval) gaan. Dit is gemiddeld ca. 400 dieren/ jaar. Voor 5 jaar gaat het dan om 2000 dieren.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

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

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

☐ Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging: Het meeste voorwerk aan de medicamenteuze stoffen wordt in vitro uitgevoerd (bijv. ADME), maar effect op cardiale functie vereist dierstudies.

Vermindering: Zo min mogelijk dieren worden gebruikt d.m.v. powercalculatie en door het meenemen van ervaringen uit eerdere experimenten.

Verfijning: Pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie en dieren worden goed gevolgd gedurende het experiment. Extra zorg wordt besteed gedurende de eerste dagen na operatie. Waar nodig krijgen de dieren suikerwater en vloeibaar voer en worden ze in een warme omgeving (26°C) geplaatst.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Dit zijn studies met medicamenteuze producten die niet eerder zijn onderzocht in deze hartfalen diermodellen of niet op deze manier zijn onderzocht. Dit weten we aan de hand Literatuurstudies en experts uit het veld.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

☐ Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting / humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

☐ Nee > Ga verder met vraag I.

XJa > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

X Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Tijdens open-thorax operaties krijgen de muizen een dosis Carprofen 5 mg/kg s.c. toegediend. Op basis van welzijnscontrole wordt bepaald of de dieren na 24 uur nog een extra dosis Carprofen krijgen toegediend. Als er sprake is van het plaatsen van een minipomp zullen de dieren een dosis Flunixin-Meglumine 3 mg/kg s.c. toegediend krijgen.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Ongerief wordt veroorzaakt door wondpijn, het bijkomen uit de narcose en de mogelijke ontwikkeling van hartfalen. In de tijd ontwikkelen deze dieren hypertrofie en hartfalen, er wordt op gelet dat het vooraf vastgestelde ongerief niet wordt overschreden dmv adequate monitoring van de dieren. Door deze monitoring kunnen we ook in de gaten houden of deze medicamenteuze stoffen geen nadelige of niet verwachte bij effecten hebben. Tevens kan de toedieningsaard van de medicamenteuze stof en herhaling daarvan voor ongerief zorgen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Het infarct en mogelijk ontwikkeling van hartfalen.

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

Pijnstilling wordt gegeven om de wondpijn te verminderen

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

☐ Nee > Ga verder met vraag K.

X Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Bij ernstig hartfalen. Dieren met afwijkend gedrag (gewichtsverlies > 15%, opstaande vacht, lethargie, wondproblemen (indien van toepassing), zwaar hijgen, locomotie) worden geëuthanaseerd.

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

We schatten dat ca. 5-20% van de dieren ernstig hartfalen kan ontwikkelen bij permanente ligatie, bij temporele ligatie is dit veel lager, ca. 5%.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Ernstig.'

Ernstig hartfalen is een zware aandoening, met een sterk verminderde kwaliteit van leven (congestie, zuurstof te kort (kortademigheid), etc), zoals dit ook bij patiënten met ernstig hartfalen het geval is. Omdat bij permanente ligatie een vrij groot aantal dieren (tot 20%) ernstig hartfalen kan ontwikkelen menen wij dat de deze behandeling als ernstig moet worden gekwalificeerd.

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

☐ Nee

X Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Voor onderzoek van organen

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	10500	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Rijksuniversiteit Groningen	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		3.4.4.1	Cardiale druk belasting

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Een van de oorzaken van hartfalen is hypertensie en stimulatie van het renine angiotensine systeem (RAS) die o.a. resulteren in een verandering van de hemodynamische belasting leidend tot concentrische hypertrofie ontwikkeling. Een toename in de drukbelasting van het hart kunnen we nabootsen door de thoracale aorta te vernauwen, terwijl het renine het RAS geactiveerd kan worden door de abdominale aorta te vernauwen. Omdat veranderingen van de hemodynamische belasting een belangrijke reden van hartfalen is het belangrijk om medicamenteuze behandelingen hierop te testen. Primaire uitkomstmaten zijn hypertrofie en hartfunctie. Secundair is fibrose ontwikkeling.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

TAC: Aan adequaat geanesthezeerde en geintubeerde dieren wordt tijdens een chirurgische ingreep de thorax geopend en wordt er een constrictie gemaakt met hechtdraad van de transverse aorta, tussen de carotiden. Het bijkomen uit narcose en de pijn aan de wond geeft licht ongerief, het ongerief wordt beperkt door gebruik van pijnstilling.

AC: Aan adequaat geanesthezeerde dieren wordt tijdens een chirurgische ingreep het abdomen geopend en wordt er een constrictie gemaakt van de abdominale aorta (suprarenal). Het bijkomen uit narcose en de pijn aan de wond geeft licht ongerief, het ongerief wordt beperkt door gebruik van pijnstilling.

Uitvalspercentage bij deze operaties door technisch falen is ca. 10%

Medicamenteuze behandeling kan voor de operatie beginnen direct na de operatie of nadat cardiale

remodeling is begonnen (om mogelijk reversibiliteit te bestuderen). De frequentie en aard van de behandeling is afhankelijk van de aard van de medicamenteuze stof en zijn farmacologische eigenschappen. Verschillende toedieningsvormen kunnen gebruikt worden: oraal via voer of drinkwater; gavage; via IP, IV, subcutane of intramusculaire injecties of via een osmotische minipomp. Indien mogelijk zal de toediening gekozen worden waarbij het ongerief voor de dieren zo laag mogelijk is, maar waarbij de gekozen dosering wel met redelijke zekerheid gewaarborgd is. Vehicle controles worden gebruikt en bevatten alleen het oplosmiddel van de stof. Deze controle dieren zullen net zo vaak gehanteerd worden en behandeld als de dieren die wel de werkzame stof krijgen.

Afhankelijk van de vraagstelling kunnen de dieren tot ca. 20 weken na aanvang van de medicatie gevolgd worden. Cardiale functie kan tijdens deze periode op meerdere momenten in de tijd niet invasief worden bepaald aan geanesthezeerde dieren d.m.v. ECG, ECHO, MRI en in speciale gevallen m.b.v. microPET. De laatste is interessant indien metabole afwijkingen verwacht of geïdentificeerd worden. Het totaal van de niet invasieve methode zal doorgaans niet vaker dan 15 maal aan dezelfde muis worden uitgevoerd. Eventueel kunnen bloedmonsters genomen worden voor biomarker analyse. Dit zal gebeuren via de staart of orbita met een max. van <10% van het circulerend volume per twee weken. Voorafgaande aan het offeren van de dieren zullen doorgaans met een katheter P/V metingen worden uitgevoerd aan het geanesthezeerde dier, die vervolgens onder anesthesie geëuthanaseerd wordt. Indien continue bloeddruk metingen van belang zijn kan eventueel telemetrie worden toegepast. Alternatief kan telemetrie worden toegepast. Op deze manier kunnen we het effect van de medicatie op hartfunctie en welzijn van de dieren goed monitoren. Daarnaast kunnen dieren voor maximaal 24 uur in een metabolisme kooi gehuisvest worden voor het opvangen van feces en urine voor de bepaling van o.a. de renale functie (i.v.m. associatie van hartfalen en renale functie).

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

Voor de meeste primaire uitkomst maten hebben we een standaard deviatie en kunnen we een te verwachten effect grootte voorspellen. Door middel van powercalculaties kunnen daarmee het aantal dieren beperkt

B. De dieren

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

Diersoorten: ratten en muizen

Herkomst: Aankoop van commerciële leveranciers of andere instellingen, via samenwerkingsverbanden, dan wel eigen fok.

Aantallen en levensstadia: Volwassen dieren. Per jaar verwachten we 4 aorta constrictie experiment uit te voeren. Het zal dan om ca. 4 groepen (inclusief sham en placebo) x 20 dieren (enigszins afhankelijk van primaire uitkomstmaat) gaan. Dit is gemiddeld ca. 320 dieren/ jaar. Voor 5 jaar gaat het dan om 1600 dieren.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

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

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

☐ Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: Het meeste voorwerk aan de medicamenteuze stoffen wordt in vitro uitgevoerd (bijv. ADME), maar effect op cardiale functie vereist dierstudies.

Vermindering: Zo min mogelijk dieren worden gebruikt d.m.v. powercalculatie en door het meenemen van ervaringen uit eerdere experimenten.

Verfijning: Pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie en dieren worden goed gevolgd gedurende het experiment. Extra zorg wordt besteed gedurende de eerste dagen na operatie. Waar nodig krijgen de dieren suikerwater en vloeibaar voer en worden ze in een warme omgeving (26°C) geplaatst.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Dit zijn studies met medicamenteuze producten die niet eerder zijn onderzocht in deze hartfalen diermodellen of niet op deze manier zijn onderzocht. Dit weten we aan de hand Literatuurstudies en experts uit het veld.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

☐ Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting / humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

☐ Nee > Ga verder met vraag I.

☒ Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

X Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Tijdens open-thorax operaties krijgen de muizen een dosis Carprofen 5 mg/kg s.c. toegediend. Op basis van welzijnscontrole wordt bepaald of de dieren na 24 uur nog een extra dosis Carprofen krijgen toegediend. Als er sprake is van het plaatsen van een minipomp zullen de dieren een dosis Flunixin-Meglumine 3 mg/kg s.c. toegediend krijgen.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Ongerief wordt veroorzaakt door wondpijn, het bijkomen uit de narcose en de mogelijke ontwikkeling van hartfalen. In de tijd ontwikkelen deze dieren hypertrofie en hartfalen, er wordt op gelet dat het vooraf vastgestelde ongerief niet wordt overschreden dmv adequate monitoring van de dieren. Door deze monitoring kunnen we ook in de gaten houden of deze medicamenteuze stoffen geen nadelige of niet verwachte bij effecten hebben. Tevens kan de toedieningsaard van de medicamenteuze stof en herhaling daarvan voor ongerief zorgen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De drukbelasting op de linker ventrikel en activatie van het renine-angiotensine systeem kan hartfalen induceren.

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

Pijnstilling wordt gegeven om de wondpijn te verminderen

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

☐ Nee > Ga verder met vraag K.

X Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Bij ernstig hartfalen. Dieren met afwijkend gedrag (gewichtsverlies > 15%, opstaande vacht, lethargie, ernstige wondproblemen (indien van toepassing), zwaar hijgen, locomotie) worden geëuthanaseerd.

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

Voorgaande experimenten leren ons dat ca. 5% van de dieren ernstig hartfalen kan ontwikkelen.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Matig

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

☐ Nee

X Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Voor onderzoek van organen

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	10500	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Rijksuniversiteit Groningen	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		3.4.4.3	(Neuro)hormonaal

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

(Neuro)hormonale activatie speelt een belangrijke rol bij de ontwikkeling van hartfalen. Hartfalen patiënten worden dan ook bijna altijd behandeld met (neuro)hormonale remmers, zoals beta-blokkers. (Neuro)hormonale stimulatie kan ook in dieren worden nagebootst d.m.v. injecties of implantatie van osmotische minipompjes met (neuro)hormonale stoffen (bijv. isoproterenol of AngII). Door medicamenteuze stoffen aan deze dieren te geven kan onderzocht worden wat het effect is van deze stoffen op (neuro)hormonaal geïnduceerde cardiale remodelering. Primaire uitkomstmaten zijn doorgaans fibrose en hartfunctie. Secundair hypertrofie.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

(Neuro)hormonale injecties kunnen intra peritoneaal (IP) gegeven worden. Voor continue infusie kan ook een osmotische minipomp geïmplanteerd worden. Afhankelijk van diersoort en pomptype kan op deze manier maximaal 8 weken achtereen het (neuro)hormoon continu gegeven worden. Hiertoe wordt aan adequaat geanestheerde dieren tijdens een chirurgische ingreep een osmotische minipomp (o.a. Alzet) in een subcutane pocket in de flank van het dier geïmplanteerd. Deze pomp kan (neuro)hormonale stoffen bevatten, zoals AngII, isoproterenol en/of phenylephrine, die langzaam zullen vrij komen. Dit zijn algemene technieken in het veld waar wij al jaren ervaring mee hebben. Het bijkomen uit narcose en de pijn aan de wond geeft matig ongerief, het ongerief wordt beperkt door gebruik van pijnstilling.

Het te gebruiken (neuro)hormoon zal afhankelijk zijn van de vraagstelling. Zo zal AngII hypertrofie met fibrose ontwikkeling geven, terwijl isoproterenol juist cel schade (apoptose) geeft en phenylephrine of IGF1 sterke hypertrofie ontwikkeling geven.

Medicamenteuze behandeling kan voor de operatie beginnen direct na de operatie of nadat cardiale remodelering aanwezig is (om mogelijk reversibiliteit te bestuderen). De frequentie en aard van de behandeling is afhankelijk van de aard van de medicamenteuze stof en zijn farmacologische eigenschappen. Verschillende toedieningsvormen kunnen gebruikt worden: oraal via voer of drinkwater; gavage; via IP, IV, subcutane of intramusculaire injecties. Indien mogelijk zal de toediening gekozen worden waarbij het ongerief voor de dieren zo laag mogelijk is, maar waarbij de gekozen dosering wel met redelijke zekerheid gewaarborgd is. Vehicle controles worden gebruikt en bevatten alleen het oplosmiddel van de stof. Deze controle dieren zullen net zo vaak gehanteerd worden en behandeld als de dieren die wel de werkzame stof krijgen.

Afhankelijk van de vraagstelling kunnen de dieren tot ca. 20 weken na aanvang van medicatie gevolgd worden. Cardiale functie kan tijdens deze periode op meerdere momenten in de tijd niet invasief worden bepaald aan geanestheeserde dieren d.m.v. ECG, ECHO, MRI en in speciale gevallen m.b.v. microPET. De laatste is interessant indien metabole afwijkingen verwacht of geïdentificeerd worden. Het totaal van de niet invasieve methode zal doorgaans niet vaker dan 15 maal aan dezelfde muis worden uitgevoerd. Eventueel kunnen bloedmonsters genomen worden voor biomarker analyse. Dit zal gebeuren via de staart of orbita met een max. van <10% van het circulerend volume per twee weken. Voorafgaande aan het offeren van de dieren zullen doorgaans met een katheter P/V metingen worden uitgevoerd aan het geanestheeserde dier, die vervolgens onder anesthesie geëuthanaseerd wordt. Indien continue bloeddruk metingen van belang zijn kan eventueel telemetrie worden toegepast. Alternatief kan telemetrie worden toegepast. Op deze manier kunnen we het effect van de medicatie op hartfunctie en welzijn van de dieren goed monitoren. Daarnaast kunnen dieren voor maximaal 24 uur in een metabolisme kooi gehuisvest worden voor het opvangen van feces en urine voor de bepaling van o.a. de renale functie (i.v.m. associatie van hartfalen en renale functie).

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

Voor de meeste primaire uitkomstmaten hebben we een standaard deviatie en kunnen we een te verwachten effect grootte voorspellen. Door middel van powercalculaties kunnen daarmee het aantal dieren beperkt.

B. De dieren

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

Diersoorten: ratten en muizen

Herkomst: Aankoop van commerciële leveranciers of andere instellingen, via samenwerkingsverbanden, dan wel eigen fok.

Aantallen en levensstadia: Volwassen dieren. Per jaar verwachten we 4 (neuro)hormonale experiment uit te voeren. Het zal dan om ca. 4 groepen (inclusief sham en placebo) x 20 dieren (enigszins afhankelijk van primaire uitkomstmaat) gaan. Dit is gemiddeld ca. 320 dieren/ jaar. Voor 5 jaar gaat het dan om 1600 dieren.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

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

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

☐ Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging: Het meeste voorwerk aan de medicamenteuze stoffen wordt in vitro uitgevoerd (bijv. ADME), maar effect op cardiale functie vereist dierstudies.

Vermindering: Zo min mogelijk dieren worden gebruikt d.m.v. powercalculatie en door het meenemen van ervaringen uit eerdere experimenten.

Verfijning: Pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie en dieren worden goed gevolgd gedurende het experiment. Extra zorg wordt besteed gedurende de eerste dagen na operatie. Waar nodig krijgen de dieren suikerwater en vloeibaar voer en worden ze in een warme omgeving (26°C) geplaatst.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Dit zijn studies met medicamenteuze producten die niet eerder zijn onderzocht in deze hartfalen diermodellen of niet op deze manier zijn onderzocht. Dit weten we aan de hand Literatuurstudies en experts uit het veld.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

☐ Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting / humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

☐ Nee > Ga verder met vraag I.

X Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

X Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Tijdens het plaatsen van een minipomp zullen de dieren een dosis Flunixin-Meglumine 3 mg/kg s.c. toegediend krijgen.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Ongerief wordt veroorzaakt door wondpijn, het bijkomen uit de narcose en de mogelijke ontwikkeling van ernstig hartfalen. In de tijd ontwikkelen deze dieren hypertrofie en hartfalen, er wordt op gelet dat het vooraf vastgestelde ongerief niet wordt overschreden dmv adequate monitoring van de dieren. Door deze monitoring kunnen we ook in de gaten houden of deze medicamenteuze stoffen geen nadelige of niet verwachte bij effecten hebben. Tevens kan de toedieningsaard van de medicamenteuze stof en herhaling daarvan voor ongerief zorgen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Neurohormonale activatie.

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

Pijnstilling wordt gegeven om de wondpijn te verminderen

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

☐ Nee > Ga verder met vraag K.

XJa > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Bij ernstig hartfalen. Dieren met afwijkend gedrag (gewichtsverlies > 15%, opstaande vacht, lethargie, ernstige wondproblemen (indien van toepassing), zwaar hijgen, locomotie) worden geëuthanaseerd.

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

We schatten dat ca. 5 % van de dieren ernstig hartfalen kan ontwikkelen

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Matig

Deze dieren zullen met name cardiale fibrose en hypertrofie ontwikkelen. Slechts een klein aantal van deze dieren zal ernstig hartfalen ontwikkelen.

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

☐ Nee

XJa > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Voor onderzoek van organen

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	10500	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Rijksuniversiteit Groningen	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		3.4.4.4	Life style

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Naast directe oorzaken van hartfalen zoals drukbelasting en volumebelasting wordt hartfalen ook veroorzaakt door life style oorzaken zoals obesitas en diabetes melites type II. Hartziekte is dan ook de belangrijkste diabetes gerelateerde doodsoorzaak. In onze onderzoeksstrategie willen we hartfalen onderzoeken in de setting van deze life style gerelateerde factoren. Een hoog vet of suiker dieet verhoogt de kans op insuline resistentie en diabetes type II. De metabole veranderingen die hieraan zijn gelinkt verhogen de kans op hartfalen. De primaire uitkomsten in deze studies zijn cardiale hypertrofie en eventuele diastole dysfunctie. Secundair zal cardiale fibrose worden onderzocht.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Een veelgebruikt model van obesitas gerelateerde cardiale remodelering is een hoog vet en/of hoog suiker dieet, resulterend in insuline resistentie. Deze diëten geven hooguit een licht ongerief. Door middel van orale glucose tolerantie testen en bijbehorende bloedafname wordt bepaald of de mate van hyperglycemie voldoende is.

Binnen onze afdeling gebruiken we vrijwillige inspanning door middel van loopwielletjes als model voor inspanning. Gedurende de studie kunnen er loopwielletjes in de kooi geplaatst worden waar de dieren naar behoefte in kunnen lopen.

Omdat leeftijd een belangrijke factor is in het ontwikkelen van hartfalen kunnen deze studies ook aan oudere dieren verricht worden (1-2 jaar oud).

Medicamenteuze behandeling kan voor tijdens of na de verandering van life style beginnen. De frequentie

en aard van de behandeling is afhankelijk van de aard van de medicamenteuze stof en zijn farmacologische eigenschappen. Verschillende toedieningsvormen kunnen gebruikt worden: oraal via voer of drinkwater; gavage; via IP, IV, subcutane of intramusculaire injecties of via een osmotische minipomp. Indien mogelijk zal de toediening gekozen worden waarbij het ongerief voor de dieren zo laag mogelijk is, maar waarbij de gekozen dosering wel met redelijke zekerheid gewaarborgd is. Vehicle controles worden gebruikt en bevatten alleen het oplosmiddel van de stof. Deze controle dieren zullen net zo vaak gehanteerd worden en behandeld als de dieren die wel de werkzame stof krijgen.

Afhankelijk van de vraagstelling kunnen de dieren tot ca. 20 weken na aanvang van medicatie gevolgd worden. Cardiale functie kan tijdens deze periode op meerdere momenten in de tijd niet invasief worden bepaald aan geanesthesteerde dieren d.m.v. ECG, ECHO, MRI en in speciale gevallen m.b.v. microPET. De laatste is interessant indien metabole afwijkingen verwacht of geïdentificeerd worden. Het totaal van de niet invasieve methode zal doorgaans niet vaker dan 15 maal aan dezelfde muis worden uitgevoerd. Eventueel kunnen bloedmonsters genomen worden voor biomarker analyse. Dit zal gebeuren via de staart of orbita met een max. van <10% van het circulerend volume per twee weken. Voorafgaande aan het offeren van de dieren zullen doorgaans met een katheter P/V metingen worden uitgevoerd aan het geanesthesteerde dier, die vervolgens onder anesthesie geëuthanaseerd wordt. Indien continue bloeddruk metingen van belang zijn kan eventueel telemetrie worden toegepast. Alternatief kan telemetrie worden toegepast. Op deze manier kunnen we het effect van de medicatie op hartfunctie en welzijn van de dieren goed monitoren. Daarnaast kunnen dieren voor maximaal 24 uur in een metabolisme kooi gehuisvest worden voor het opvangen van feces en urine voor de bepaling van o.a. de renale functie (i.v.m. associatie van hartfalen en renale functie).

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

B. De dieren

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

Diersoorten: ratten en muizen

Herkomst: Aankoop van commerciële leveranciers of andere instellingen, via samenwerkingsverbanden, dan wel eigen fok.

Aantallen en levensstadia: Volwassen dieren. Gemiddeld verwachten we per jaar 3 life style experiment uit te voeren. Het zal dan om ca. 4 groepen (inclusief controle en placebo) x 20 dieren gaan (enigszins afhankelijk van primaire uitkomstmaat) . Is gemiddeld ca. 240 dieren/ jaar. Voor 5 jaar gaat het dan om 1200 dieren.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

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

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

☐ Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij

het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welk keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: Het meeste voorwerk aan de medicamenteuze stoffen wordt in vitro uitgevoerd (bijv. ADME), maar effect op cardiale functie vereist dierstudies.

Vermindering: Zo min mogelijk dieren worden gebruikt d.m.v. powercalculatie en door het meenemen van ervaringen uit eerdere experimenten.

Verfijning: D.m.v. niet invasieve hartfunctie monitoring kunnen we de duur van het experiment eventueel verkorten (indien primaire eindpunt is bereikt).

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Goede monitoring

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Dit zijn experimenten met medicamenteuze stoffen die niet eerder in deze vorm zijn uitgevoerd. Dit weten we aan de hand van literatuur studies en via experts uit het veld.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

X Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

X Nee > Ga verder met vraag H.

☐ Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting / humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

☐ Nee > Ga verder met vraag I.

☒ Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

☒ Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Bij het plaatsen van een minipomp wordt een eenmalige dosis FLunexin/Meglumine van 3 mg/kg s.c. gegeven.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Ja, herhaaldelijk toedienen van medicatie kan het welzijn aantasten. Indien mogelijk zal voor de meest diervriendelijke toedieningsvorm gekozen worden.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

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

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

☐ Nee > Ga verder met vraag K.

X Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Ja veroudering en overmatig gewicht en medicamenteuze behandeling kunnen tot problemen leiden. Bij dieren met afwijkend gedrag (gewichtsverlies > 15%, opstaande vacht, lethargie, locomotie) worden geëuthanaseerd.

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

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Matig

Afhankelijk van de wijze van medicamenteuze behandeling en tezamen met het totaal van de niet invasieve behandelingen (meermaals onder anesthesie) kan dit als matig worden bestempeld

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

☐ Nee

X Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Ontnemen van organen voor verdere analyse

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja



Format

Niet-technische samenvatting

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Onderzoek naar mogelijke therapeutische aangrijpingspunten om de vicieuze cyclus van hartfalen progressie te doorbreken
1.2 Looptijd van het project	5 jaar
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	hart, hartfalen, medicamenteuze behandeling, medicijnen

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.	☒ Fundamenteel onderzoek
	☒ Translationeel of toegepast onderzoek
	☐ Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
<i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i>	☐ Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid
	☐ Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
	☐ Hoger onderwijs of opleiding
	☐ Forensisch onderzoek
	☐ Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Projectbeschrijving

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	Hartfalen is een syndroom met hoge prevalentie en tussen de 20% en 30% van de Nederlanders krijgt in zijn leven te maken met hartfalen. Patiënten met hartfalen hebben nog steeds een slechte prognose en ca. 50% van alle patiënten overlijdt binnen 5 jaar na de eerste diagnose. Door de toenemende vergrijzing en een toename van de risicofactoren zoals obesitas en diabetes is de verwachting dat het aantal hartfalen patiënten eerder toeneemt dan afneemt. We hebben in de afgelopen decennia een steeds beter inzicht in het syndroom hartfalen gekregen en in de laatste jaren zijn de moleculaire en
---	---

cellulaire processen die aan hartfalen ten grondslag liggen gedetailleerd in kaart gebracht. Hierbij is het ook duidelijk geworden dat we hartfalen progressie alleen kunnen stoppen als we de vicieuze cyclus van pathologische hypertrofie, fibrose en inflammatie kunnen stoppen. Medicamenteuze behandelingsstrategieën die op meerdere punten van deze cyclus aangrijpen moeten daarvoor geïdentificeerd en getest worden. Het doel hierbij is om hartfalen patiënten uiteindelijk een betere behandeling te kunnen geven.

- | | | |
|-----|---|---|
| 3.2 | Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang? | We verwachten dat deze dierstudies er toe zullen leiden dat er nieuwe aangrijpingspunten voor de behandeling van hartfalen worden geïdentificeerd en dat onze studies de fundering kunnen geven voor een verder onderzoekstraject van een paar medicamenteuze stoffen richting de kliniek. |
| 3.3 | Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt? | Muis en rat
Ca. 6400 |
| 3.4 | Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren? | De dieren kunnen pijn hebben van operatieve ingrepen en ongerief ondervinden van niet-invasieve imaging (bijv. ECG). Daarnaast kan de ontwikkeling van ernstig hartfalen tot ongerief leiden en kunnen eventuele negatieve bijwerkingen van de nieuwe medicamenteuze behandeling niet uitgesloten worden. |
| 3.5 | Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst? | Net zoals in mensen resulteert hartfalen bij dieren tot ongerief. Om hartfalen ontwikkeling in dieren te induceren zullen de dieren een behandeling ondergaan. Afhankelijk van de behandeling zal dit leiden tot hartfalen met matig tot ernstig ongerief. |
| 3.6 | Wat is de bestemming van de dieren na afloop? | De dieren worden gedood om het hart in detail te kunnen onderzoeken |

4 Drie V's

- | | | |
|-----|--|--|
| 4.1 | Vervanging
Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden. | Alleen in een diermodel kunnen structurele orgaan veranderingen bestudeerd worden en kan de verandering in hartfunctie bepaald worden. Daarnaast zijn hemodynamische parameters, zoals de bloeddruk, en ontstekingsreacties door beschadigd hartweefsel belangrijke factoren die tot cardiale remodelering aanzetten, die niet in een petrischaal nagebootst kunnen worden |
| 4.2 | Vermindering
Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt. | voor alle dierproeven adequate berekeningen worden uitgevoerd om het benodigde aantal dieren voor een te verwachten effectgrootte te bepalen. Daarnaast hebben we veel ervaring met de gekozen modellen en worden alle complexe ingrepen door een ervaren biotechnicus uitgevoerd |

4.3 **Verfijning**

Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

Onze proefdierstudies richten zich op muis en rat. De redenen hiervoor zijn dat de fysiologie van het hart en de processen die leiden tot ontwikkeling van hartfalen in grote mate overeenkomstig zijn met de humane situatie. Tevens zijn er zeer goede methodes voor het induceren en analyseren van hartfalen in muizen en ratten en hebben we o.a. speciale niet-invasieve imaging apparatuur voor deze kleine proefdieren om hartfunctie en -structuur te kunnen bepalen

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

Indien nodig wordt er pijnstilling gebruikt. Goede monitoring van de dieren stelt ons in staat het ongerief zo gering mogelijk te houden

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen

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 **8052**)
2. Titel van het project: **Onderzoek naar therapeutische middelen om de vicieuze cyclus van hartfalen te doorbreken**
3. Titel van de NTS: **Onderzoek naar mogelijke therapeutische aangrijpingspunten om de vicieuze cyclus van hartfalen progressie te doorbreken**
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: **10-02-2016**
 - ☐ aanvraag compleet: **10-02-2016**
 - ☐ in vergadering besproken: **18-02-2016**
 - ☐ anderszins behandeld: **13-03-2016**
 - ☐ termijnonderbreking(en) van / tot **22-02-2016 tot 07-03-2016**
 - ☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen **n.v.t.**
 - ☐ aanpassing aanvraag: **07-03-2016**
 - ☐ advies aan CCD: **17-03-2016**
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. Telefonisch overleg met de aanvrager

- Datum: **22 februari 2016**
- Strekking van de vraag / vragen: **met name geadviseerd de beoogde interventies nader te preciseren en de wetenschappelijke context uitdrukkelijker te schetsen.**
- **Deze communicatie heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag.**

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

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

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

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

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:

- **uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord**

2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) is / zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en). **Ja.**
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als 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. **NVT.**
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. **Ja.**
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen.**
8. **De beschikbare farmaca zijn eerst zoveel als mogelijk *in vitro* getest (ondermeer ten aanzien van absorption, distribution, metabolism, excretion [ADME]) teneinde enkel dierproeven aan te wenden voor farmaca die tenminste hun werkzaamheid *in vitro* hebben bewezen met het oog op maximale vermindering van dierproeven. Tevens worden ter monitoring metingen herhaald aan hetzelfde dier. In het project wordt aldus optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de vermindering van dierproeven.** Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt.
9. **Het project is in overeenstemming met de vereiste van de verfijning van dierproeven gezien de expliciete voorkeur in het project voor niet-invasieve metingen en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd.** Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.
10.
De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd. **Ja.**

D. Ethische afweging

Alhoewel de behandelingsopties van hart- en vaatziekten de afgelopen decennia sterk zijn verbeterd is de behandeling van patiënten, waarbij uiteindelijk hartfalen is opgetreden hachelijk. Het doel van dit projectvoorstel is de therapeutische mogelijkheden van hartfalen te verbeteren, waarbij drie pathofysiologische uitgangspunten worden gekozen teneinde optimaal onderzoeksresultaat te behalen, te weten hypertrofie, fibrosering en ontsteking.

Onderhavige onderzoeksgroep heeft een viertal modellen bij de rat en de muis ontwikkeld en gevalideerd, waarmee zowel deze drie pathofysiologische mechanismen kunnen worden onderzocht alsmede de belangrijkste risico factoren (voeding en beweging). Met behulp van deze modellen wordt getracht de ontwikkeling van therapeutica voor hartfalen vorm te geven en de gekozen insteek van de drie verschillende pathofysiologische mechanismen met toepassing van de vier beschreven modellen zijn zeer voor de hand liggend.

Gezien de gekozen insteek van de drie verschillende pathofysiologische mechanismen met toepassing van de vier beschreven modellen alsmede vier goed gedefinieerde go/no go momenten is het projectvoorstel samenhangend en zijn de vier fases onderling afhankelijk, waardoor het projectvoorstel is geworden tot een toetsbare eenheid.

Alles afwegende oordeelt de DEC dat de doeleinden van het project de toegebrachte schade in de vorm van lijden, pijn en angst (bij het merendeel van de proefdieren ingeschat als matig en < 20 % als ernstig in bijlagen 2 en 3) rechtvaardigen. Zij komt tot dit oordeel op basis van de volgende overweging. De onderzoekers hebben in hun projectontwerp de 3 V's de vereiste aandacht gegeven. Het onderzoek is voorts zowel uit fundamenteel wetenschappelijk als translationeel oogpunt verantwoord. En het is waarschijnlijk is dat de doeleinden worden gehaald, waardoor op termijn de curatieve mogelijkheden van hartfalen bij patiënten worden vergroot. Dit kan als een gewichtig maatschappelijk belang worden gekwalificeerd.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

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

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1,

9713 AV GRONINGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD105002016487

Bijlagen

2

Datum 21 maart 2016

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

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

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD105002016487. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

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

Factuur

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

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 10500
Naam instelling of organisatie: Rijksuniversiteit Groningen
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: 01179037
Straat en huisnummer: A. Deusinglaan 1, [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 2015
Geplande einddatum: 31 maart 2021
Titel project: Onderzoek naar therapeutische middelen om de vicieuze cyclus van hartfalen progressie te doorbreken
Titel niet-technische samenvatting: Onderzoek naar therapeutische middelen om de vicieuze cyclus van hartfalen progressie te doorbreken
Naam DEC: DEC-RUG
Postadres DEC: A. Deusinglaan 1, [REDACTED]
E-mailadres DEC: secrdec.umcg@umcg.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1.584,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

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

Ondertekening

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Plaats: Groningen



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1,

9713 AV GRONINGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD105002016487

Bijlagen

2

Datum 21 maart 2016

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 21 maart 2016

Vervaldatum: 20 april 2016

Factuurnummer: 16700487

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD105002016487	€ 1.584,00

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



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1,
9713 AV Groningen

**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD105002016487

Uw referentie
uw ref

Bijlagen
1

Datum 11 april 2016

Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte

Op 18 maart 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Onderzoek naar therapeutische middelen om de vicieuze cyclus van hartfalen progressie te doorbreken" met aanvraagnummer AVD105002016487. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

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

Niet technische samenvatting

- De Niet technische samenvatting bij uw aanvraag bevat veel terminologie die bij het brede publiek niet bekend is (bijvoorbeeld maar niet uitsluitend: "de vicieuze cyclus van pathologische hypertrofie, fibrose en inflammatie", "cardiale remodelering", "niet-invasieve imaging". U wordt verzocht de tekst in de NTS te heroverwegen en minder specialistische terminologie te gebruiken.

- In de NTS lijkt het of bij vraag 4.2 een stukje tekst is weggevallen. Dit graag corrigeren.

Graag ontvangen wij een Niet technische samenvatting die voldoet aan de eisen. Deze eisen kunt u vinden op onze website www.centralecommissiedierproeven.nl.

Onduidelijkheden in het projectvoorstel

- U heeft niet gespecificeerd of mannen dan wel vrouwen dan wel beide geslachten gebruikt zullen worden. De CCD vindt het van belang dat mannelijke en vrouwelijke dieren zoveel als mogelijk in gelijke aantallen gebruikt zullen worden. Kunt u specificeren van welk geslacht u de dieren zult gebruiken, en indien u niet beide geslachten gebruikt, kunt u dit dan onderbouwen.

- U heeft per bijlage alleen een totaal aantal dieren genoemd, zonder onderscheid te maken tussen ratten en muizen. Kunt u hier een splitsing in maken?

- U beschrijft in bijlage 2 en 3 dat een deel van de dieren ernstig hartfalen zal ontwikkelen. Zijn dit de dieren waarvoor u het ongerief inschat als ernstig? Kunt u

in deze bijlagen onder vraag K een opsplitsing maken in een verwacht percentage dieren met matig dan wel ernstig ongerief?

- In bijlage 4 beschrijft u wel humane eindpunten, maar heeft u de vraag over welk percentage dieren dit HEP zal bereiken niet ingevuld. Gelieve dit alsnog te doen.

Datum

11 april 2016

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD105002016487

Zonder deze aanvullende informatie kan de beslissing nadelig voor u uitvallen omdat de gegevens onvolledig of onduidelijk zijn.

Leges

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

Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Stuurt u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt.

Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post



Melding

Bijlagen via de post

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

1 Uw gegevens

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

2 Bijlagen

- 2.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
Vul de naam of omschrijving van de bijlage in.
- | | |
|--------------------------|--|
| ☐ | |
| ☐ | |
| ☐ | |

3 Ondertekening

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

Van: [REDACTED]
Verzonden: dinsdag 12 april 2016 18:04
Aan: 'Info-zbo'; [REDACTED]
CC: [REDACTED]
Onderwerp: RE: Aanhouden aanvraag AVD105002016487
Bijlagen: Bijlage-beschrijving-dierproeven-3444-Life style-April2016.docx; NTS-HF-treatment-April2016.docx; Projectvoorstel-HF treatment-[REDACTED]April2016.docx; Bijlage-beschrijving-dierproeven-3441-Druk belasting-April2016.docx; Bijlage-beschrijving-dierproeven-3442-Ischemie-April2016.docx; Bijlage-beschrijving-dierproeven-3443-Neurohormonaal-April2016.docx

Beste [REDACTED]

Bijgevoegd de veranderde documenten betreffende CCD aanvraag AVD105002016487.

Hieronder heb ik tevens puntsgewijs antwoord gegeven op alle vragen van de CCD. Ik hoop hiermee te voldoen aan alle eisen omtrent deze CCD aanvraag.

Met vriendelijke groet,

Antwoorden op vragen:

Niet technische samenvatting

Opmerking: Niet technische samenvatting bij uw aanvraag bevat veel terminologie die bij het brede publiek niet bekend is (bijvoorbeeld maar niet uitsluitend: “de vicieuze cyclus van pathologische hypertrofie, fibrose en inflammatie”, “cardiale remodelering”, “niet-invasieve imaging”. U wordt verzocht de tekst in de NTS te heroverwegen en minder specialistische terminologie te gebruiken.

Antwoord: We hebbende tekst aangepast en de terminologie vervangen voor meer regulier taalgebruik.

Opmerking: In de NTS lijkt het of bij vraag 4.2 een stukje tekst is weggevallen. Dit graag corrigeren.

Antwoord: Hier zijn inderdaad een paar woorden weggevallen. Dit is aangepast in de nieuwe versie.

Opmerking: Graag ontvangen wij een Niet technische samenvatting die voldoet aan de eisen. Deze eisen kunt u vinden op onze website www.centralecommissiedierproeven.nl.

Antwoord: We gaan ervan uit dat de bijgevoegde nieuwe NTS versie aan de vereisten voldoet.

Onduidelijkheden in het projectvoorstel

Opmerking: U heeft niet gespecificeerd of mannen dan wel vrouwen dan wel beide geslachten gebruikt zullen worden. De CCD vindt het van belang dat mannelijke en vrouwelijke dieren zoveel als mogelijk in

gelijke aantallen gebruikt zullen worden. Kunt u specificeren van welk geslacht u de dieren zult gebruiken, en indien u niet beide geslachten gebruikt, kunt u dit dan onderbouwen.

Antwoord: Dit is een goed punt en hebben we inderdaad niet voldoende belicht in de aanvraag. Het is bekend dat de mate van cardiale hypertrofie en fibrose verschilt tussen mannen en vrouwen en dit geldt ook voor mannelijke en vrouwelijke knaagdieren. Zo ontwikkelen vrouwen door inspanning meer fysiologische hypertrofie en ontwikkelen ze minder pathologische hypertrofie en fibrose door bijvoorbeeld druk belasting. De oestrogeen receptor en de oestrogeen related receptors (ERRs) spelen hierbij een belangrijke rol. Daarnaast is bekend dat de afname van oestrogeen niveaus tijdens de menopauze het risico op hart aandoeningen vergroot. Het samenvoegen van mannelijke en vrouwelijk dieren binnen een experiment zal daarom voor meer variatie zorgen, waardoor grotere groepen nodig zijn. Daarnaast kan de oestrogeen cyclus dus invloed hebben op de uitkomst maat. We zullen daarom bij voorkeur mannelijke dieren in onze studies opnemen. Alleen wanneer bekend is dat de medicamenteuze stof effect op de oestrogeen levels of de ERRs heeft zullen we onze keus moeten heroverwegen. Daarnaast zou het in een later stadium van het onderzoek van belang kunnen zijn om dit mee te nemen.

Een beschrijving met referenties hierover is in het nieuwe projectvoorstel ingevoegd (rode letters).

Opmerking: U heeft per bijlage alleen een totaal aantal dieren genoemd, zonder onderscheid te maken tussen ratten en muizen. Kunt u hier een splitsing in maken?

Antwoord: Dit heb ik aangepast. Dit is ook in de NTS gewijzigd.

Opmerking: U beschrijft in bijlage 2 en 3 dat een deel van de dieren ernstig hartfalen zal ontwikkelen. Zijn dit de dieren waarvoor u het ongerief inschat als ernstig? Kunt u in deze bijlagen onder vraag K een opsplitsing maken in een verwacht percentage dieren met matig dan wel ernstig ongerief?

Antwoord:

Bij de dieren die ernstig hartfalen ontwikkelen (sterk verminderde hartfunctie) zien wij het cumulatieve ongerief inderdaad als ernstig. Bij de andere dieren is het ongerief met name het post-operatieve ongerief dat door pijnstilling verminderd wordt. Bij deze dieren verslechtert de pompfunctie wel, maar niet in die mate dat dit tot cumulatief ernstig ongerief leidt. Ook mensen met verslechterende pompfunctie merken hier in het begin weinig van en ontstaan er alleen problemen tijdens inspanning. Alleen bij sterk verminderde pompfunctie ontstaat ernstig hartfalen met vermeerderd ongerief.

Opmerking: In bijlage 4 beschrijft u wel humane eindpunten, maar heeft u de vraag over welk percentage dieren dit HEP zal bereiken niet ingevuld. Gelieve dit alsnog te doen.

Antwoord: Deze gegevens zijn toegevoegd aan bijlage 4.

Verzonden: maandag 11 april 2016 18:01

Onderwerp: Aanhouden aanvraag AVD105002016487

Beste |

Bijgaande brief wordt u niet meer per post toegezonden.

In principe heeft u 14 dagen de tijd om te reageren op de vragen. Indien u echter uiterlijk **donderdag 14 april voor 12 uur** reageert op de gestelde vragen, kunnen wij er zeker van zijn dat uw aanvraag in de eerstvolgende CCD vergadering besproken zal worden. De deadline voor reactie op de vragen van deze aanvraag is anders dan bij de zojuist gestuurde vragen bij aanvraag AVD105002016486. Dit is een bewuste keuze, om uw beide aanvragen in de eerstvolgende vergadering te kunnen bespreken.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

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

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



Format

Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- ☒ Fundamenteel onderzoek
- ☒ Translationeel of toegepast onderzoek
- ☐ Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- ☐ Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- ☐ Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- ☐ Hoger onderwijs of opleiding
- ☐ Forensisch onderzoek
- ☐ Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

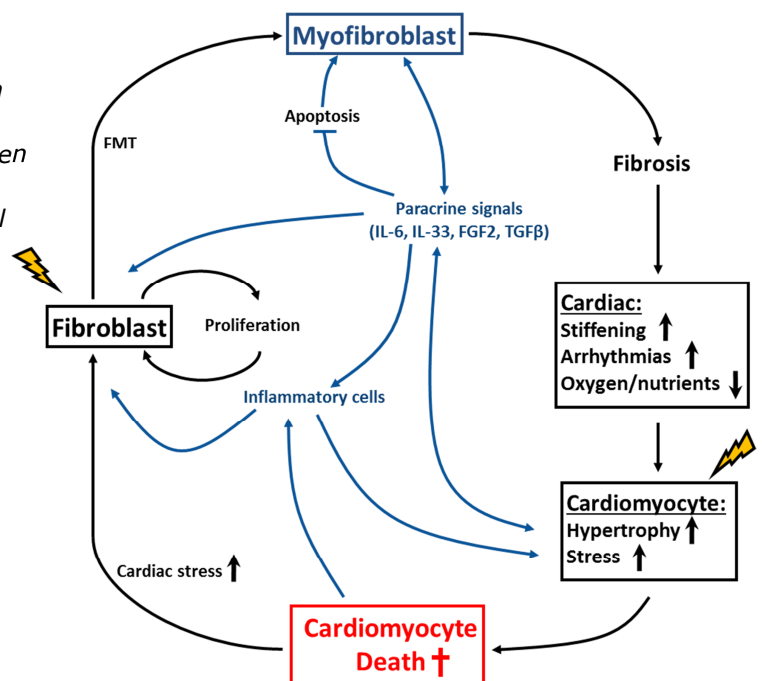
Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

De diagnostische methoden en de behandelingsopties voor cardiovasculaire (CV) ziektes zijn de afgelopen decennia sterk verbeterd en de mortaliteit ten gevolge van CV ziektes is daardoor gestaag afgenomen. Ondanks deze successen zijn de sterftcijfers nog steeds aanzienlijk en kan er nog veel verbeterd worden. Hartfalen is vaak het pathologische eindsyndroom van de meeste andere cardiovasculaire aandoeningen, zoals een hartinfarct, hoge bloeddruk, coronair lijden en kleplijden. Bij hartfalen is het hart niet meer in staat om het lichaam op een adequate manier van bloed te voorzien. Dit heeft ernstige klachten tot gevolg en patiënten met hartfalen hebben een slechte prognose, waarbij 50% van alle patiënten binnen 5 jaar na diagnose overlijden [1]. Het sterftcijfer voor hartfalen is de laatste decennia nagenoeg constant gebleven [2]. Dit betekent niet dat er geen verbeteringen zijn geweest in de behandeling, maar dit is een paradoxaal gevolg van de betere behandeling van andere CV ziektes en de verouderende populatie.

Structurele en functionele veranderingen in het hart, zgn. cardiale remodelering, liggen ten grondslag aan het ontwikkelen van hartfalen [3-5]. Deze veranderingen worden geïnduceerd door cardiale stress factoren, zoals hypertensie en coronair lijden. Een drietal processen spelen een voorname rol in cardiale remodelering (figuur 1). Allereerst pathologische hypertrofie (groei) van cardiomyocyten (hartspiercellen), waarbij een metabole switch optreedt en de cardiomyocyt functie verslechtert en cel dood optreedt, resulterend in verminderde hartfunctie. Ten tweede vinden er extracellulaire matrix veranderingen plaats, waaronder bindweefsel vorming (fibrotisering), wat leidt tot verstijving van het hart en verslechterde nutriënt en zuurstof toevoer naar de cellen in het hart. De derde component in hartfalen betreft een inflammatoire respons die sterk geassocieerd is met fibrose. Pathologische hypertrofie stimuleert zowel de inflammatoire respons als cardiale fibrotisering die op hun beurt cardiomyocyt stress verhogen en hypertrofie verder versterkt. Deze drie processen vormen dus een vicieuze cirkel die zichzelf in stand kan houden (figuur 1) [6]. Als dit proces eenmaal in gang gezet is, is het wegnemen van alleen de initiële stress factoren ontoereikend om verdere progressie van hartfalen te voorkomen. Helaas beperkt de huidige therapie zich echter tot het aanpakken van de initiële stress factoren, zoals hypertensie en neurohormonale (o.a. adrenerge) activatie (d.m.v. angiotensin-converting enzyme (ACE), mineralocorticoid receptor antagonisten (MRAs) en bètablokkers). Alhoewel deze therapeutische middelen de progressie van hartfalen kunnen remmen, zijn ze niet in staat om het ziekteproces te stoppen. Naast deze therapie zal het dus noodzakelijk zijn om targets te identificeren en middelen te vinden die de vicieuze cirkel kunnen doorbreken. Ons onderzoek richt zich dan ook op drie processen van deze vicieuze cirkel: hypertrofie, fibrose en inflammatie.

Figure 1. De vicieuze cirkel van fibrose en cardiomyocyt hypertrofie, resulterend in cardiomyocyt cel dood en verdere activatie van fibroblasten tot myofibroblasten en daardoor verdere fibrotisering. Inflammatoire processen binnen deze cirkel spelen hierbij een belangrijke rol. De gele weerlichten geven de initiële stress factoren aan. Voor verdere details zie Piek et al. [6]. Overgenomen uit [6].



Pathologische hypertrofie kenmerkt zich door een zgn. "return tot he fetal gene program" Hierbij komen genen die normalerwijze in het ontwikkelende foetale hart tot expressie komen weer tot expressie in het "zieke" adulte hart. Hierdoor vindt ook een metabole switch plaats waarbij het adulte hart overgaat van met name vetzuur metabolisme naar koolhydraat metabolisme. Deze switch kan leiden tot metabool stapeling (glycogeen, lipiden) mitochondriale dysfunctie, zuurstof radicaal productie en verlaagde ATP niveaus. Wij hebben laten zien dat [REDACTED]

Extra cellulaire matrix remodelering speelt een belangrijke rol bij verstijving en dilatatie van het hart en dus verslechtering van de hartfunctie. Alhoewel mineralocorticoid receptor antagonisten (MRAs) ook een remmende werking op fibrose hebben zijn er op dit moment geen specifieke fibrose remmende middelen die voor hartfalen gebruikt worden. Wij en anderen hebben laten zien dat [REDACTED]

Infiltratie van inflammatoire cellen zoals neutrofielen en macrofagen vindt niet alleen plaats na een infarct, maar ook tijdens cardiale remodelering. Inflammatie speelt dan ook een belangrijke rol bij hartfalen ontwikkeling en stoffen uitgescheiden door deze immuun cellen stimuleert zowel hypertrofie als fibrose. [REDACTED]

[REDACTED] Inhibitie van de infiltratie en activatie van deze inflammatoire cellen en de producten die ze genereren is dus een belangrijke spil in het doorbreken van dit vicieuze proces.

Ons onderzoek richt zich op het onderzoeken van mechanismen en nieuwe therapieën die de ontwikkeling van hartfalen kunnen remmen. Hierbij richten we ons op de hierboven beschreven targets en processen, waarbij we proberen de vicieuze cyclus van verslechtering van de hartspier te onderbreken. Daarnaast onderzoeken we of therapie op bestaande aangrijpingspunten verder verbeterd kan worden. Een goede therapie zal dus moeten bestaan uit een combinatie van stoffen die aan de ene kant de initiële stress factoren weg nemen en aan de andere kant ingrijpen op de sleutelprocessen van de vicieuze cirkel [6]. Daarom zullen uiteindelijk combinaties van stoffen getest moeten worden.

Voor onze studies zijn dierproeven onontbeerlijk, omdat alleen in een dier structurele orgaan veranderingen en hartfunctie parameters bepaald kunnen worden. Daarnaast zijn hemodynamische parameters, neurohormonale invloeden en ontstekingsprocessen belangrijke factoren die tot cardiale remodelering aanzetten, en die niet goed buiten het lichaam nagebootst kunnen worden. We verwachten

dat onze resultaten inzicht geven in welke aangrijpingspunten (targets) medicamenteus aangepakt kunnen worden voor het behandelen van hartfalen. We hopen hierbij dit uiteindelijk zal resulteren in verbeterde therapie voor hartfalen patiënten. Gezien de aard van de ziekte en het grote aantal mensen die deze ziekte krijgt achten wij het verantwoord om dit in dieren te onderzoeken.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Doel: Het verbeteren van huidige hartfalen therapie door middel van medicamenteuze ingrijpen op specifieke processen van de vicieuze hartfalen cyclus.

Hierbij kunnen een aantal sub vragen gedefinieerd worden:

- Welke medicamenteuze aangrijpingspunten kunnen fibrose in het hart remmen en hartfunctie verbeteren onder pathologische condities?
- Welke metabool gerelateerde interventies kunnen cardiomyocyt hypertrofie verminderen en hartfunctie verbeteren onder pathologische condities?
- Welke medicamenteuze aangrijpingspunten kunnen inflammatie in het verminderen onder pathologische condities en hartfunctie verbeteren?
- Kunnen deze behandelingen een beter inzicht geven in de complexe onderlinge verwevenheid van deze processen in het hart?
- Zijn combinatie therapieën beter in staat de progressie van hartfalen te remmen?

We hebben uitgebreide expertise in het onderzoeken van cardiale remodelering en hartfalen in kleine proefdieren (muis en rat). Binnen ons centrum kunnen we hartfunctie in kleine proefdieren in detail onderzoeken met o.a. elektrocardiogram (ECG), echocardiografie (ECHO), magnetic resonance imaging (MRI), positron emissie tomografie (microPET) en druk/volume metingen (P/V katheter). Daarnaast hebben we een breed scala aan (immuno)histochemische en moleculaire technieken tot onze beschikking om structurele veranderingen te onderzoeken.

We hebben ervaring met het onderzoeken naar de effecten van medicamenteuze behandelingen op hartfalen progressie, waarbij in de laatste jaren metabool gerelateerde interventies in muis en rat zijn uitgevoerd en de effecten op hypertrofie bestudeerd [12-16]. Ons onderzoek richt zich nu met name op

[REDACTED]

Voor het induceren van cardiale remodelering hebben we meerdere methodes beschikbaar. Dit betreffen ischemische modellen d.m.v. (tijdelijke) afbinding van de coronair arterie, linker ventrikel druk belasting modellen d.m.v. een constrictie van de aorta en neurohormonale modellen door toediening van neurohormonale stoffen. Voor het uitvoeren van deze specialistische ingrepen hebben we een zeer ervaren biotechnicus op onze afdeling en het centraal dierproef laboratorium (CDL) heeft een microchirurgisch team dat ons hierin bijstaat.

Dankzij deze expertise en apparatuur kunnen we therapeutische behandelingen van hartfalen nauwkeurig onderzoeken in proefdieren. Dit kan leiden tot nieuwe behandelingsmethoden en zal tevens nieuwe inzichten in de moleculaire en cellulaire mechanismen geven die ten grondslag liggen aan hartfalen ontwikkeling.

3.3 Belang

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

Hartfalen is een syndroom met hoge prevalentie en tussen de 20% en 30% van de Nederlanders krijgt in zijn leven te maken met hartfalen. Patiënten met hartfalen hebben nog steeds een slechte prognose en ca. 50% van alle patiënten overlijdt binnen 5 jaar na de eerste diagnose. Door de toenemende vergrijzing en een toename van de risicofactoren zoals obesitas en diabetes is de verwachting dat het aantal hartfalen patiënten eerder toeneemt dan afneemt. We hebben in de afgelopen decennia een steeds beter inzicht in het syndroom hartfalen gekregen en in de laatste jaren zijn de moleculaire en cellulaire processen die aan hartfalen ten grondslag liggen gedetailleerd in kaart gebracht. Hierbij is het ook duidelijk geworden dat we hartfalen progressie alleen kunnen stoppen als we de vicieuze cyclus van pathologische hypertrofie en fibrose kunnen stoppen. Medicamenteuze behandelingsstrategieën die op meerdere punten van deze cyclus aangrijpen moeten daarvoor geïdentificeerd en getest worden. Het doel hierbij is om hartfalen patiënten uiteindelijk een betere behandeling te kunnen geven.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Er zullen medicamenteuze aangrijpingspunten onderzocht worden tegen de besproken hartfalen processen, te weten: fibrose, hypertrofie (met een focus op metabole interventie) en inflammatie. Door stoffen te kiezen tegen specifieke targets in deze processen hopen we te kunnen laten zien dat bepaalde pathways in deze processen geschikt zijn voor hartfalen interventie. Daarnaast hopen we door het gebruik van deze stoffen meer inzicht te krijgen in de dynamiek en reversibiliteit van de processen. Dit laatste is moeilijk uit te voeren d.m.v. genetische manipulaties, omdat dit meestal (conditionele) aan of uit systemen zijn.

Afhankelijk van het aangrijpingspunt van de medicamenteuze stof zullen we een bepaald hartfalen diermodel kiezen (muis of rat). Zo zullen anti-fibrotische middelen met name getest worden in een hartfalen model waarin fibrose een voorname rol speelt (bijv. bij druk overbelasting) terwijl een anti-inflammatoir middel eerder getest zal worden in een hartfalen model waar de inflammatoire respons een belangrijke rol speelt (zoals bij ischemie). Doorgaans zullen hierbij vier groepen dieren worden gebruikt (controle+placebo; controle+medicament; hartfalen+placebo; hartfalen+medicament), maar dit kan eventueel uitgebreid worden als er extra doses getest moeten worden. De groepsgrootte zal afhankelijk zijn van het te kiezen primaire eindpunt (bijv. mate van hypertrofie of fibrose of verandering in ejectie fractie (EF)) en het te verwachten effect. Het effect van de behandeling op hartfalen ontwikkeling zal o.a. niet invasief bepaald worden d.m.v. bijv. ECHO of MRI. Daarnaast kunnen metabole aanpassingen met de microPET onderzocht worden. Aan het eind van het experiment zullen hemodynamische metingen worden verricht, waarna de dieren getermineerd worden en het hart en eventuele andere organen en weefsels op histologisch en moleculair niveau geanalyseerd worden.

Afhankelijk van de resultaten zal de desbetreffende studie opgevolgd worden met andere dierstudies om additioneel bewijs te verkrijgen. Belangrijk hierbij is dat ook een ander hartfalen model wordt gebruikt om aan te tonen dat het effect niet model specifiek is. Tevens kan hierbij gedacht worden om een muis studie in ratten te herhalen en vice versa om soort specifieke effecten uit te sluiten. Uiteindelijk hopen we dat deze dierstudies er toe zullen leiden dat ons inzicht in deze dynamische processen verbeterd en dat een verder translationeel traject richting de kliniek gekozen kan worden voor bepaalde stoffen.

We verwachten gemiddeld ca. 4 stoffen per jaar te kunnen testen.

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

De keus van medicamenteuze middelen die we gaan testen is afhankelijk van een aantal factoren en kan in een drietal subdomeinen worden ingedeeld.

[Redacted text block]

[Redacted text block]

[Redacted text block]

Zoals hierboven reeds aangeduid kunnen we deze stoffen in een 4-tal proefdiermodellen van hartfalen onderzoeken die klinische relevantie hebben, te weten:

1. **Druk overbelasting model** (bijlage 3.4.4.1).

Humane situatie: Komt overeen met bijv. humane aorta stenose.

Resulteert in: Concentrische hypertrofie, lichte/matige fibrose en uiteindelijk dilatatie

In dit muis/rat model wordt de aorta enigszins afgeknepen.

Bij thoracale aorta constrictie (TAC) wordt er een bandje gelegd om de transverse aorta

waardoor linker kamer drukbelasting wordt gegenereerd [17] In het geval van een abdominale constrictie wordt vooral het renine angiotensine systeem (RAS) geactiveerd [16], wat leidt tot bloeddruk aanpassingen en directe effecten van angiotensin II (Ang-II) op het hart.

2. **Ischemisch model** (bijlage 3.4.4.2)

Humane situatie: Komt overeen met een humaan infarct model

Resulteert in: Cardiomyocyt cel dood en inflammatoire reacties gevolgd door sterke fibrotisering en excentrische hypertrofie.

In dit muis/rat ischemisch hartfalen model wordt een coronair arterie permanent dan wel tijdelijk afgebonden. Structurele remodelering speelt in dit model een grote rol en leidt uiteindelijk tot een duidelijk verlaagde linker ventrikel ejectie fractie ([13,15,18]).

3. **(Neuro)hormonaal model** (bijlage 3.4.4.3).

Humane situatie: (neuro)hormonale activatie speelt een belangrijke rol in de ontwikkeling van humaan hartfalen.

Resulteert in: AngII geeft sterke fibrose en concentrische hypertrofie. Adrenerge stimulatie geeft sterke hypertrofie en cel dood.

In het muis/rat (neuro)hormonale model kan via injectie of implantatie van een osmotische minipomp de (neuro)hormonale activatie kunstmatig verhoogd resulterend in hartfalen. Hierbij moet gedacht worden aan adrenerge stimulatie middels isoproterenol of phenylephrine of stimulatie van angiotensine II (Ang-II) receptoren middels infusie van Ang-II .. Dit maakt het mogelijk om naar specifiek gestuurde (neuro)hormonale hartfalen vorming te kijken.

4. **Life style model** (bijlage 3.4.4.4).

Humane situatie: Life style factoren zoals, Westers dieet, en leeftijd zijn belangrijke risico factor voor de ontwikkeling van hartfalen.

Resulteert in: Metabool syndroom induceert cardiale hypertrofie en uiteindelijk fibrose.

In dit muis/rat model moet geacht worden aan sedentary life style t.o.v. actief (loopwiel), metabool syndroom (bijv. Westers dieet en diabetes type II), eventueel in relatie met veroudering (bijlage 3.4.4.4). Dit model kan eventueel met één van de drie bovenstaande modellen worden gecombineerd om de humane situatie verder na te bootsen.

Zoals beschreven zal het te kiezen model sterk afhankelijk zijn van de stof en pathway die onderzocht gaat worden. **De mate van cardiale veranderingen (o.a. hypertrofie en fibrose) is verschillend tussen mannelijke en vrouwelijke dieren (ook bij mensen) [19-21]. Zo ontwikkelen vrouwen door inspanning meer fysiologische hypertrofie en ontwikkelen ze minder pathologische hypertrofie en fibrose door bijvoorbeeld druk belasting[21,22]. De oestrogeen receptor en de oestrogeen related receptors (ERRs) spelen hierbij een belangrijke rol [19,23]. Daarnaast is bekend dat de afname van oestrogeen niveaus tijdens de menopauze het risico op hart aandoeningen vergroot. Het samenvoegen van mannelijke en vrouwelijk dieren binnen een experiment zal daarom voor meer variatie zorgen in deze primaire uitkomstmaten, waardoor grotere groepen nodig zijn. Daarnaast kan de oestrogeen cyclus invloed hebben op de uitkomst maat. We zullen daarom bij voorkeur mannelijke dieren in onze studies opnemen. Alleen wanneer bekend is dat de medicamenteuze stof effect op de oestrogeen niveaus en signalering heeft of op ERRs zullen we onze keus moeten heroverwegen. Daarnaast zou het in een later stadium van het onderzoek van belang kunnen zijn om specifieke effecten in vrouwelijke dieren te onderzoeken (zoals in de 2^{de} fase, zie hierna).**

Om het effect van de medicamenteuze stof op cardiale remodelering en hartfalen ontwikkeling te bepalen staan ons meerdere technieken ter beschikking. Niet invasieve technieken met apparatuur speciaal ontworpen voor kleine proefdieren zijn. o.a. het ECG, ECHO en MRI (9.4 Tesla Bruker). Daarnaast kan de microPET gebruikt worden om o.a. het veranderd metabolisme tijdens hartfalen te analyseren (bijv. met ¹⁸F-FDG). Bij terminatie kunnen tevens druk/volume (P/V) metingen in het hart en

aorta worden uitgevoerd middels muis of rat P/V catheters. Eventueel kan er ook voor gekozen worden om het hart na terminatie van het (on)behandelde dier middels Langendorff techniek verder te onderzoeken.

Naast functionele studies zal het essentieel zijn om de cellulaire en moleculaire veranderingen in het hart te bestuderen. Hartweefsel van deze dieren zal daartoe aan het eind van het experiment worden onderzocht m.b.v. (immuno)histochemie (o.a. fibrotisering, cel grootte, ontstekingsreacties) en op moleculair niveau d.m.v. Western blotting, gen expressie analyse en pathway analyse (o.a. gene ontologie, KEGG analyse) en andere technieken. Dit kan ons verder inzicht geven in de processen die onder invloed staan van het desbetreffende target en eventuele nieuwe aangrijpingspunten aanleveren.

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

In dit dier onderzoek zullen we targets en pathways onderzoeken door middel van toedienen van medicamenteuze stoffen die specifiek hiertegen gericht zijn en waarvan we verwachten dat ze progressie van cardiale remodelering en hartfalen kunnen remmen. Zoals vermeld, betreft het hier targets en pathways die op drie processen effect kunnen hebben namelijk: 1) fibrose, 2) hypertrofie (focus op metabolisme) en 3) inflammatie. Voor dit onderzoek gebruiken we stoffen die we zelf ontwikkelen tegen specifieke targets en stoffen die uit andere onderzoeken en samenwerkingen ter beschikking komen. Dit onderzoek is een doorlopend proces en we verwachten dat het onderzoek van deze stoffen resulteert in betere inzichten en identificatie van eventuele nieuwe targets. Eventueel kunnen meerdere stoffen tegelijkertijd onderzocht worden. Het traject wat gevolgd zal worden zal er doorgaans als volgt uitzien:

Fase 1:

Gebaseerd op o.a. het proces waarop de stof aangrijpt, het primaire eindpunt en de te verwachten effectgrootte, zal een hartfalen model worden gekozen waarin deze stof het beste onderzocht kan worden. Een gemiddeld hartfalen proefdierexperiment duurt ca. 8 weken, daarna dienen functionele data te worden uitgewerkt en moleculaire en histologische analyses te worden uitgevoerd. (ca. 8 weken). Vanaf de start van het experiment zal het ca. 16 weken duren voordat voorlopige conclusies getrokken kunnen worden. Indien wenselijk zullen de toediening van de stof gefaseerd uitvoeren. We wijzen er op dat we tijdens deze studies ook in de gaten zullen houden dat de toegediende stof geen ander ongerief veroorzaakt. Indien gedrag/orgaan/weefsel veranderingen worden opgemerkt die eventueel met de toegediende stof geassocieerd kunnen worden zal dit natuurlijk vastgelegd worden en kan dit eventueel betekenen dat verder onderzoek met deze stof niet wenselijk is of aangepast moet worden.

Beslismoment 1:

- A. Indien het target goed geremd wordt en er verbetering in hartfunctie en/of cardiale structuur te zien zijn, kan dit als mijlpaal gezien worden, en zullen de cellulaire en moleculaire veranderingen verder onderzocht worden om beter inzicht in het onderliggende proces te verkrijgen. Dit zal doorgaans ook betekenen dat we overgaan naar fase 2 van het onderzoek.
- B. Indien er geen effecten van de stof op hartfunctie of cardiale structuur te zien zijn zal verder proefdieronderzoek naar dit middel/target vooreerst niet zinvol zijn. In dat geval zal eerst vanuit de voorliggende studie naar mogelijke oorzaken worden gezocht, zoals mate van remming en mogelijke activatie van compensatoire mechanismen.

Fase 2:

Indien een positief resultaat (vermindering van hartfalen) in de eerste studie behaald wordt zal ter bevestiging het onderzoek herhaald worden in een tweede hartfalen proefdiermodel. Door een ander model te kiezen kan tevens bewezen worden dat het gevonden effect niet diermodel specifiek is. Als voorbeeld verwijzen we hiervoor naar onze [REDACTED]

Beslismoment 2:

- A. Indien ook in dit tweede model verbetering in hartfunctie en/of cardiale structuur te zien is zal verder proefdieronderzoek onderzoek wenselijk zijn. Dit is een belangrijke mijlpaal, omdat nu in twee onafhankelijke studies met verschillende modellen een effect is aangetoond.
- B. Indien er geen effecten van de stof op hartfunctie of cardiale structuur te zien zijn zal verder proefdieronderzoek naar dit middel/target vooreerst niet zinvol zijn. In dat geval zal eerst vanuit de voorliggende studies onderzocht worden waardoor de verschillen veroorzaakt kunnen worden. Dit kan ook interessante nieuwe inzichten geven in dit complexe syndroom. Indien mogelijke aanwijsbare oorzaken gevonden kunnen worden zal eventueel verder proefdieronderzoek ter sprake komen.

Fase 3:

Een positief resultaat (vermindering van hartfalen) uit de voorgaande studies betekent een grote sprong voorwaarts. In de kliniek wordt nieuwe medicatie nagenoeg altijd op al bestaande therapie getest. Het zal dan ook noodzakelijk zijn om te onderzoeken of de nieuwe stof ook effectiviteit laat zien bovenop bestaande medicatie bovenop. Dit is een translationele stap die vaak wordt overgeslagen, maar zeer belangrijk is voor verder klinische ontwikkeling. Daarnaast kunnen we onder deze condities laten zien dat het remmen van de vicieuze pathologische cirkel additionele verbetering geeft bovenop het weghalen van de initiële stress factoren. Afhankelijk van het diermodel zal hierbij onderzoek worden gedaan in aanwezigheid van bijv. Ace remmers, ARBs en/of MRAs. Omdat de effectgrootte hierdoor zal afnemen zijn waarschijnlijk grotere groepen nodig die langer gevolgd dienen te worden. Deze studies zijn van wezenlijk belang om te bewijzen dat ons model juist is en dat deze extra component nodig is voor een succesvolle klinische behandeling van hartfalen.

Beslismoment 3:

- A. Indien ook onder deze condities verdere verbetering in hartfunctie en/of cardiale structuur te zien is hebben we een zeer belangrijke mijlpaal gehaald. Hierbij hebben we niet alleen in een derde onafhankelijke studie, maar ook effectiviteit in de aanwezigheid van andere medicamenten bewezen. In dit stadium zal er nagedacht moeten gaan worden over proefdier studies met grote proefdieren of directe translatie naar de kliniek. Dit valt echter buiten het bestek van dit project voorstel.

Fase 4:

Metabool syndroom en leeftijd zijn belangrijke risico factoren voor hartfalen. We achten het dan ook van belang dat ons onderzoek ook op een achtergrond met tenminste één van deze risicofactoren getest kan worden eventueel in combinatie van één van de andere hartfalen inducerende behandelingen. Stoffen die metabole effecten hebben zouden bijv. ook in een achtergrond met metabool syndroom getest moeten worden. Alhoewel dit als fase 4 staat aangemerkt zou het voor sommige stoffen wenselijk kunnen zijn om dit in een eerder stadium uit te voeren.

Beslismoment 4:

- A. Indien in dit model verbetering in hartfunctie en/of cardiale structuur te zien is, is hierbij aangetoond dat deze stof ook in aanwezigheid van belangrijke negatieve life style factoren positieve effecten kan bewerkstelligen. Dit is een belangrijke mijlpaal, omdat deze factoren een belangrijke rol in latere klinische studies zullen hebben.

Een positief resultaat (verbetering van hart functie, verminderde remodelering) in een dierstudie is een mijlpaal. Hierbij is met name een positief resultaat na de tweede studie (fase 2) van groot belang, omdat dan in twee onafhankelijke studies en modellen een positief resultaat behaald is. Op dat moment kunnen we dus ook vaststellen dat het aangrijpingspunt (het moleculaire target) een goed target is voor therapie en dat wellicht ook andere aangrijpingspunten in dezelfde pathway als mogelijke targets kunnen dienen. Daarnaast zal in fase 3 kunnen worden aangetoond het aangrijpen van dit target de vicieuze cirkel kan

doorbreken in de aanwezigheid van standaard medicatie gericht op de initiële stress factoren. Dit zal ons huidige idee van de vicieuze hartfalen cirkel kunnen bevestigen en laten zien dat het noodzakelijk is deze cirkel te doorbreken om hartfalen progressie uiteindelijk te kunnen stoppen. Verdere translatie richting de kliniek zal dan gemaakt kunnen worden.

References

- [1] Zannad F, Briancon S, Juilliere Y, Mertes PM, Villemot JP, Alla F et al. Incidence, clinical and etiologic features, and outcomes of advanced chronic heart failure: the EPICAL Study. *Epidemiologie de l'Insuffisance Cardiaque Avancee en Lorraine. J Am Coll Cardiol* 1999;33:734-42.
- [2] Authors/Task Force Members, McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Bohm M et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J* 2012.
- [3] MacRae CA. The genetics of congestive heart failure. *Heart Fail Clin* 2010;6:223-30.
- [4] Hill JA, Olson EN. Cardiac plasticity. *N Engl J Med* 2008;358:1370-80.
- [5] Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:569-82.

[Redacted text block containing multiple lines of obscured content]

[Redacted text block]

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Cardiall druk belastings model
2	Cardiaal ischemie model
3	(Neuro)hormonaal model
4	Life style model
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.					
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.					
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Volgnummer</th> <th style="text-align: left;">Type dierproef</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>3.4.4.2</td> <td>Cardiale ischemie</td> </tr> </tbody> </table>	Volgnummer	Type dierproef	3.4.4.2	Cardiale ischemie
Volgnummer	Type dierproef					
3.4.4.2	Cardiale ischemie					

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Een van de oorzaken van hartfalen is cardiale remodeling als gevolg van een hartinfarct. De ischemische periode kan hierbij permanent zijn of tijdelijk zoals het geval is bij dotteren, waarbij het vat van de patient weer wordt opengemaakt. Ischemie is dus een belangrijke oorzaak van hartfalen ontwikkeling bij mensen. Bij cardiale ischemie vindt eerst cel dood plaats dat gevolgd wordt door een inflammatoire reactie en zgn. replacement fibrose. In het niet aangedane hartweefsel vindt vervolgens remodelering plaats met verder gaande fibrose en met excentrische hypertrofie dat resulteert in een dilaterend hart. Bij het testen van behandelingsmethodes tegen deze vorm van hartfalen in diermodellen zal met name de hartfunctie een primaire uitkomst maat zijn. Secundair hierbij zijn de structurele veranderingen waaronder hypertrofie en fibrose.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Tijdens een chirurgische ingreep wordt een de linker kransslagader geligeerd met een hechting. Dit geeft een verandering van kleur van het infarctgebied (het gebied 'at risk'). Deze hechting blijft permanent aanwezig of wordt na een vooraf vastgestelde tijd (meestal tussen de 30-60 minuten) weer verwijderd. Technisch falen hierbij ligt tussen de 10-30%. Het bijkomen uit narcose en de pijn aan de wond en de ontwikkeling van een verminderde hartfunctie geeft matig tot ernstig ongerief, het ongerief wordt beperkt door gebruik van pijnstilling. Afhankelijk van de vraagstelling kunnen de dieren uren tot dagen (directe effecten van ischemie/reperfusie) of tot 20 weken worden gevolgd (late remodelering). Tijdens deze vervolg periode kan de hartfunctie en remodelering middels niet invasieve methodes gemonitord worden.

Medicamenteuze behandeling kan voor de operatie beginnen direct na de operatie of nadat cardiale remodeling is begonnen (om mogelijk reversibiliteit te bestuderen). De frequentie en aard van de

behandeling is afhankelijk van de aard van de medicamenteuze stof en zijn farmacologische eigenschappen. Verschillende toedieningsvormen kunnen gebruikt worden: oraal via voer of drinkwater; gavage; via IP, IV, subcutane of intramusculaire injecties of via een osmotische minipomp. Indien mogelijk zal de toediening gekozen worden waarbij het ongerief voor de dieren zo laag mogelijk is, maar waarbij de gekozen dosering wel met redelijke zekerheid gewaarborgd is. Vehicle controles worden gebruikt en bevatten alleen het oplosmiddel van de stof. Deze controle dieren zullen net zo vaak gehanteerd worden en behandeld als de dieren die wel de werkzame stof krijgen.

Afhankelijk van de vraagstelling kunnen de dieren tot ca. 20 weken na aanvang van medicatie gevolgd worden. Cardiale functie kan tijdens deze periode op meerdere momenten in de tijd niet invasief worden bepaald aan geanesthezeerde dieren d.m.v. ECG, ECHO, MRI en in speciale gevallen m.b.v. microPET. De laatste is interessant indien metabole afwijkingen verwacht of geïdentificeerd worden. Het totaal van de niet invasieve methode zal doorgaans niet vaker dan 15 maal aan dezelfde muis worden uitgevoerd. Eventueel kunnen bloedmonsters genomen worden voor biomarker analyse. Dit zal gebeuren via de staart of orbita met een max. van <10% van het circulerend volume per twee weken. Voorafgaande aan het offeren van de dieren zullen doorgaans met een katheter P/V metingen worden uitgevoerd aan het geanesthezeerde dier, die vervolgens onder anesthesie geëuthanaseerd wordt. Indien continue bloeddruk metingen van belang zijn kan eventueel telemetrie worden toegepast. Alternatief kan telemetrie worden toegepast. Op deze manier kunnen we het effect van de medicatie op hartfunctie en welzijn van de dieren goed monitoren. Daarnaast kunnen dieren voor maximaal 24 uur in een metabolisme kooi gehuisvest worden voor het opvangen van feces en urine voor de bepaling van o.a. de renale functie (i.v.m. associatie van hartfalen en renale functie).

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

Voor de meeste primaire uitkomst maten hebben we een standaard deviatie en kunnen we een te verwachten effectgrootte voorspellen. Door middel van powercalculaties kunnen daarmee het aantal dieren beperkt

B. De dieren

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

Diersoorten: ratten en muizen.

Herkomst: Aankoop van commerciële leveranciers of andere instellingen, via samenwerkingsverbanden, dan wel eigen fok.

Aantallen en levensstadia: Volwassen dieren. Per jaar verwachten we 4 ischemie/reperfusie experiment uit te voeren. Het zal dan om ca. 4 groepen (inclusief sham en placebo) x 25 dieren (enigszins afhankelijk van primaire uitkomstmaat en rekening houdende met uitval) gaan. Dit is gemiddeld ca. 400 dieren/ jaar. Voor 5 jaar gaat het dan om 2000 dieren. Dit zal in muizen worden uitgevoerd (3 van de 5) experimenten. Dus ca. 1200 muizen en 800 ratten.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

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

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

☐ Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging: Het meeste voorwerk aan de medicamenteuze stoffen wordt in vitro uitgevoerd (bijv. ADME), maar effect op cardiale functie vereist dierstudies.

Vermindering: Zo min mogelijk dieren worden gebruikt d.m.v. powercalculatie en door het meenemen van ervaringen uit eerdere experimenten.

Verfijning: Pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie en dieren worden goed gevolgd gedurende het experiment. Extra zorg wordt besteed gedurende de eerste dagen na operatie. Waar nodig krijgen de dieren suikerwater en vloeibaar voer en worden ze in een warme omgeving (26°C) geplaatst.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Dit zijn studies met medicamenteuze producten die niet eerder zijn onderzocht in deze hartfalen diermodellen of niet op deze manier zijn onderzocht. Dit weten we aan de hand Literatuurstudies en experts uit het veld.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

☐ Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

☐ Nee > Ga verder met vraag I.

XJa > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

X Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Tijdens open-thorax operaties krijgen de muizen een dosis Carprofen 5 mg/kg s.c. toegediend. Op basis van welzijnscontrole wordt bepaald of de dieren na 24 uur nog een extra dosis Carprofen krijgen toegediend. Als er sprake is van het plaatsen van een minipomp zullen de dieren een dosis Flunixin-Meglumine 3 mg/kg s.c. toegediend krijgen.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Ongerief wordt veroorzaakt door wondpijn, het bijkomen uit de narcose en de mogelijke ontwikkeling van hartfalen. In de tijd ontwikkelen deze dieren hypertrofie en hartfalen, er wordt op gelet dat het vooraf vastgestelde ongerief niet wordt overschreden dmv adequate monitoring van de dieren. Door deze monitoring kunnen we ook in de gaten houden of deze medicamenteuze stoffen geen nadelige of niet verwachte bij effecten hebben. Tevens kan de toedieningsaard van de medicamenteuze stof en herhaling daarvan voor ongerief zorgen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Het infarct en mogelijk ontwikkeling van hartfalen.

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

Pijnstilling wordt gegeven om de wondpijn te verminderen

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

☐ Nee > Ga verder met vraag K.

X Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Bij ernstig hartfalen. Dieren met afwijkend gedrag (gewichtsverlies > 15%, opstaande vacht, lethargie, wondproblemen (indien van toepassing), zwaar hijgen, locomotie) worden geëuthanaseerd.

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

We schatten dat ca. 5-20% van de dieren ernstig hartfalen kan ontwikkelen bij permanente ligatie, bij temporele ligatie is dit veel lager, ca. 5%.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Dit zijn zware ingrepen en de muizen hebben de eerste dagen na operatie ongerief dat d.m.v. pijnstilling wordt verlicht. Met name de dieren die daarna ernstig hartfalen ontwikkelen (ca. 20%) hebben vaak blijvend en later verergerend ongerief en cumulatief gezien zien we dit als ernstig ongerief. De muizen waarin dit niet optreedt (80%) bestempelen we als cumulatief matig ongerief.

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

☐ Nee

X Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Voor onderzoek van organen

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.					
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.					
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Volgnummer</th> <th style="text-align: left;">Type dierproef</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>3.4.4.1</td> <td>Cardiale druk belasting</td> </tr> </tbody> </table>	Volgnummer	Type dierproef	3.4.4.1	Cardiale druk belasting
Volgnummer	Type dierproef					
3.4.4.1	Cardiale druk belasting					

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Een van de oorzaken van hartfalen is hypertensie en stimulatie van het renine angiotensine systeem (RAS) die o.a. resulteren in een verandering van de hemodynamische belasting leidend tot concentrische hypertrofie ontwikkeling. Een toename in de drukbelasting van het hart kunnen we nabootsen door de thoracale aorta te vernauwen, terwijl het renine het RAS geactiveerd kan worden door de abdominale aorta te vernauwen. Omdat veranderingen van de hemodynamische belasting een belangrijke reden van hartfalen is het belangrijk om medicamenteuze behandelingen hierop te testen. Primaire uitkomstmaten zijn hypertrofie en hartfunctie. Secundair is fibrose ontwikkeling.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

TAC: Aan adequaat geanesthezeerde en geintubeerde dieren wordt tijdens een chirurgische ingreep de thorax geopend en wordt er een constrictie gemaakt met hechtdraad van de transverse aorta, tussen de carotiden. Het bijkomen uit narcose en de pijn aan de wond geeft licht ongerief, het ongerief wordt beperkt door gebruik van pijnstilling.

AC: Aan adequaat geanesthezeerde dieren wordt tijdens een chirurgische ingreep het abdomen geopend en wordt er een constrictie gemaakt van de abdominale aorta (suprarenal). Het bijkomen uit narcose en de pijn aan de wond geeft licht ongerief, het ongerief wordt beperkt door gebruik van pijnstilling.

Uitvalspercentage bij deze operaties door technisch falen is ca. 10%

Medicamenteuze behandeling kan voor de operatie beginnen direct na de operatie of nadat cardiale

remodeling is begonnen (om mogelijk reversibiliteit te bestuderen). De frequentie en aard van de behandeling is afhankelijk van de aard van de medicamenteuze stof en zijn farmacologische eigenschappen. Verschillende toedieningsvormen kunnen gebruikt worden: oraal via voer of drinkwater; gavage; via IP, IV, subcutane of intramusculaire injecties of via een osmotische minipomp. Indien mogelijk zal de toediening gekozen worden waarbij het ongerief voor de dieren zo laag mogelijk is, maar waarbij de gekozen dosering wel met redelijke zekerheid gewaarborgd is. Vehicle controles worden gebruikt en bevatten alleen het oplosmiddel van de stof. Deze controle dieren zullen net zo vaak gehanteerd worden en behandeld als de dieren die wel de werkzame stof krijgen.

Afhankelijk van de vraagstelling kunnen de dieren tot ca. 20 weken na aanvang van de medicatie gevolgd worden. Cardiale functie kan tijdens deze periode op meerdere momenten in de tijd niet invasief worden bepaald aan geanestheerde dieren d.m.v. ECG, ECHO, MRI en in speciale gevallen m.b.v. microPET. De laatste is interessant indien metabole afwijkingen verwacht of geïdentificeerd worden. Het totaal van de niet invasieve methode zal doorgaans niet vaker dan 15 maal aan dezelfde muis worden uitgevoerd. Eventueel kunnen bloedmonsters genomen worden voor biomarker analyse. Dit zal gebeuren via de staart of orbita met een max. van <10% van het circulerend volume per twee weken. Voorafgaande aan het offeren van de dieren zullen doorgaans met een katheter P/V metingen worden uitgevoerd aan het geanestheerde dier, die vervolgens onder anesthesie geëuthanaseerd wordt. Indien continue bloeddruk metingen van belang zijn kan eventueel telemetrie worden toegepast. Alternatief kan telemetrie worden toegepast. Op deze manier kunnen we het effect van de medicatie op hartfunctie en welzijn van de dieren goed monitoren. Daarnaast kunnen dieren voor maximaal 24 uur in een metabolisme kooi gehuisvest worden voor het opvangen van feces en urine voor de bepaling van o.a. de renale functie (i.v.m. associatie van hartfalen en renale functie).

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

Voor de meeste primaire uitkomst maten hebben we een standaard deviatie en kunnen we een te verwachten effect grootte voorspellen. Door middel van powercalculaties kunnen daarmee het aantal dieren beperkt

B. De dieren

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

Diersoorten: ratten en muizen

Herkomst: Aankoop van commerciële leveranciers of andere instellingen, via samenwerkingsverbanden, dan wel eigen fok.

Aantallen en levensstadia: Volwassen dieren. Per jaar verwachten we 4 aorta constrictie experiment uit te voeren. Het zal dan om ca. 4 groepen (inclusief sham en placebo) x 20 dieren (enigszins afhankelijk van primaire uitkomstmaat) gaan. Dit is gemiddeld ca. 320 dieren/ jaar. Voor 5 jaar gaat het dan om 1600 dieren. Dit zal met name in muizen worden uitgevoerd (5 van de 6 experimenten). Dus ca. 1300 muizen en 300 ratten.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

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

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

☐ Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging: Het meeste voorwerk aan de medicamenteuze stoffen wordt in vitro uitgevoerd (bijv. ADME), maar effect op cardiale functie vereist dierstudies.

Vermindering: Zo min mogelijk dieren worden gebruikt d.m.v. powercalculatie en door het meenemen van ervaringen uit eerdere experimenten.

Verfijning: Pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie en dieren worden goed gevolgd gedurende het experiment. Extra zorg wordt besteed gedurende de eerste dagen na operatie. Waar nodig krijgen de dieren suikerwater en vloeibaar voer en worden ze in een warme omgeving (26°C) geplaatst.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Dit zijn studies met medicamenteuze producten die niet eerder zijn onderzocht in deze hartfalen diermodellen of niet op deze manier zijn onderzocht. Dit weten we aan de hand Literatuurstudies en experts uit het veld.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

☐ Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

☐ Nee > Ga verder met vraag I.

☒ Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden

toegepast?
☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.
☒ Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.
Tijdens open-thorax operaties krijgen de muizen een dosis Carprofen 5 mg/kg s.c. toegediend. Op basis van welzijnscontrole wordt bepaald of de dieren na 24 uur nog een extra dosis Carprofen krijgen toegediend. Als er sprake is van het plaatsen van een minipomp zullen de dieren een dosis Flunixin-Meglumine 3 mg/kg s.c. toegediend krijgen.
I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen
Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?
Ongerief wordt veroorzaakt door wondpijn, het bijkomen uit de narcose en de mogelijke ontwikkeling van hartfalen. In de tijd ontwikkelen deze dieren hypertrofie en hartfalen, er wordt op gelet dat het vooraf vastgestelde ongerief niet wordt overschreden dmv adequate monitoring van de dieren. Door deze monitoring kunnen we ook in de gaten houden of deze medicamenteuze stoffen geen nadelige of niet verwachte bij effecten hebben. Tevens kan de toedieningsaard van de medicamenteuze stof en herhaling daarvan voor ongerief zorgen.
Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.
De drukbelasting op de linker ventrikel en activatie van het renine-angiotensine systeem kan hartfalen induceren.
Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.
Pijnstilling wordt gegeven om de wondpijn te verminderen
J. Humane eindpunten
Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?
☐ Nee > Ga verder met vraag K.
☒ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.
Bij ernstig hartfalen. Dieren met afwijkend gedrag (gewichtsverlies > 15%, opstaande vacht, lethargie, ernstige wondproblemen (indien van toepassing), zwaar hijgen, locomotie) worden geëuthanaseerd.
Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?
Voorgaande experimenten leren ons dat ca. 5% van de dieren ernstig hartfalen kan ontwikkelen.
K. Classificatie van ongerief
Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.
Matig. Een klein deel ca. 5% kan cumulatief ernstig ongerief krijgen.

Einde experiment

L. Wijze van doden
Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?
☐ Nee
☒ Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.
Voor onderzoek van organen
Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?
☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.
☒ Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.					
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.					
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Volgnummer</th> <th style="text-align: left;">Type dierproef</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>3.4.4.3</td> <td>(Neuro)hormonal</td> </tr> </tbody> </table>	Volgnummer	Type dierproef	3.4.4.3	(Neuro)hormonal
Volgnummer	Type dierproef					
3.4.4.3	(Neuro)hormonal					

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

(Neuro)hormonale activatie speelt een belangrijke rol bij de ontwikkeling van hartfalen. Hartfalen patiënten worden dan ook bijna altijd behandeld met (neuro)hormonale remmers, zoals beta-blokkers. (Neuro)hormonale stimulatie kan ook in dieren worden nagebootst d.m.v. injecties of implantatie van osmotische minipompjes met (neuro)hormonale stoffen (bijv. isoproterenol of AngII). Door medicamenteuze stoffen aan deze dieren te geven kan onderzocht worden wat het effect is van deze stoffen op (neuro)hormonaal geïnduceerde cardiale remodelering. Primaire uitkomstmaten zijn doorgaans fibrose en hartfunctie. Secundair hypertrofie.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

(Neuro)hormonale injecties kunnen intra peritoneaal (IP) gegeven worden. Voor continue infusie kan ook een osmotische minipomp geïmplanteerd worden. Afhankelijk van diersoort en pomptype kan op deze manier maximaal 8 weken achtereen het (neuro)hormoon continu gegeven worden. Hiertoe wordt aan adequaat geanesthezeerde dieren tijdens een chirurgische ingreep een osmotische minipomp (o.a. Alzet) in een subcutane pocket in de flank van het dier geïmplanteerd. Deze pomp kan (neuro)hormonale stoffen bevatten, zoals AngII, isoproterenol en/of phenylephrine, die langzaam zullen vrij komen. Dit zijn algemene technieken in het veld waar wij al jaren ervaring mee hebben. Het bijkomen uit narcose en de pijn aan de wond geeft matig ongerief, het ongerief wordt beperkt door gebruik van pijnstilling.

Het te gebruiken (neuro)hormoon zal afhankelijk zijn van de vraagstelling. Zo zal AngII hypertrofie met fibrose ontwikkeling geven, terwijl isoproterenol juist cel schade (apoptose) geeft en phenylephrine of IGF1 sterke hypertrofie ontwikkeling geven.

Medicamenteuze behandeling kan voor de operatie beginnen direct na de operatie of nadat cardiale remodelering aanwezig is (om mogelijk reversibiliteit te bestuderen). De frequentie en aard van de behandeling is afhankelijk van de aard van de medicamenteuze stof en zijn farmacologische eigenschappen. Verschillende toedieningsvormen kunnen gebruikt worden: oraal via voer of drinkwater; gavage; via IP, IV, subcutane of intramusculaire injecties. Indien mogelijk zal de toediening gekozen worden waarbij het ongerief voor de dieren zo laag mogelijk is, maar waarbij de gekozen dosering wel met redelijke zekerheid gewaarborgd is. Vehicle controles worden gebruikt en bevatten alleen het oplosmiddel van de stof. Deze controle dieren zullen net zo vaak gehanteerd worden en behandeld als de dieren die wel de werkzame stof krijgen.

Afhankelijk van de vraagstelling kunnen de dieren tot ca. 20 weken na aanvang van medicatie gevolgd worden. Cardiale functie kan tijdens deze periode op meerdere momenten in de tijd niet invasief worden bepaald aan geanestheeserde dieren d.m.v. ECG, ECHO, MRI en in speciale gevallen m.b.v. microPET. De laatste is interessant indien metabole afwijkingen verwacht of geïdentificeerd worden. Het totaal van de niet invasieve methode zal doorgaans niet vaker dan 15 maal aan dezelfde muis worden uitgevoerd. Eventueel kunnen bloedmonsters genomen worden voor biomarker analyse. Dit zal gebeuren via de staart of orbita met een max. van <10% van het circulerend volume per twee weken. Voorafgaande aan het offeren van de dieren zullen doorgaans met een katheter P/V metingen worden uitgevoerd aan het geanestheeserde dier, die vervolgens onder anesthesie geëuthanaseerd wordt. Indien continue bloeddruk metingen van belang zijn kan eventueel telemetrie worden toegepast. Alternatief kan telemetrie worden toegepast. Op deze manier kunnen we het effect van de medicatie op hartfunctie en welzijn van de dieren goed monitoren. Daarnaast kunnen dieren voor maximaal 24 uur in een metabolisme kooi gehuisvest worden voor het opvangen van feces en urine voor de bepaling van o.a. de renale functie (i.v.m. associatie van hartfalen en renale functie).

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

Voor de meeste primaire uitkomstmaten hebben we een standaard deviatie en kunnen we een te verwachten effect grootte voorspellen. Door middel van powercalculaties kunnen daarmee het aantal dieren beperkt.

B. De dieren

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

Diersoorten: ratten en muizen

Herkomst: Aankoop van commerciële leveranciers of andere instellingen, via samenwerkingsverbanden, dan wel eigen fok.

Aantallen en levensstadia: Volwassen dieren. Per jaar verwachten we 4 (neuro)hormonale experiment uit te voeren. Het zal dan om ca. 4 groepen (inclusief sham en placebo) x 20 dieren (enigszins afhankelijk van primaire uitkomstmaat) gaan. Dit is gemiddeld ca. 320 dieren/ jaar. Voor 5 jaar gaat het dan om 1600 dieren. Dit zal met name in muizen worden uitgevoerd (3 van de 4 experimenten). Dus ca. 1200 muizen en 400 ratten.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

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

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

☐ Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging: Het meeste voorwerk aan de medicamenteuze stoffen wordt in vitro uitgevoerd (bijv. ADME), maar effect op cardiale functie vereist dierstudies.

Vermindering: Zo min mogelijk dieren worden gebruikt d.m.v. powercalculatie en door het meenemen van ervaringen uit eerdere experimenten.

Verfijning: Pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie en dieren worden goed gevolgd gedurende het experiment. Extra zorg wordt besteed gedurende de eerste dagen na operatie. Waar nodig krijgen de dieren suikerwater en vloeibaar voer en worden ze in een warme omgeving (26°C) geplaatst.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Dit zijn studies met medicamenteuze producten die niet eerder zijn onderzocht in deze hartfalen diermodellen of niet op deze manier zijn onderzocht. Dit weten we aan de hand Literatuurstudies en experts uit het veld.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

☐ Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

☐ Nee > Ga verder met vraag I.
X Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?
☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.
X Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.
Tijdens het plaatsen van een minipomp zullen de dieren een dosis Flunixin-Meglumine 3 mg/kg s.c. toegediend krijgen.
I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen
Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?
Ongerief wordt veroorzaakt door wondpijn, het bijkomen uit de narcose en de mogelijke ontwikkeling van ernstig hartfalen. In de tijd ontwikkelen deze dieren hypertrofie en hartfalen, er wordt op gelet dat het vooraf vastgestelde ongerief niet wordt overschreden dmv adequate monitoring van de dieren. Door deze monitoring kunnen we ook in de gaten houden of deze medicamenteuze stoffen geen nadelige of niet verwachte bij effecten hebben. Tevens kan de toedieningsaard van de medicamenteuze stof en herhaling daarvan voor ongerief zorgen.
Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.
Neurohormonale activatie.
Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.
Pijnstilling wordt gegeven om de wondpijn te verminderen
J. Humane eindpunten
Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?
☐ Nee > Ga verder met vraag K.
XJa > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.
Bij ernstig hartfalen. Dieren met afwijkend gedrag (gewichtsverlies > 15%, opstaande vacht, lethargie, ernstige wondproblemen (indien van toepassing), zwaar hijgen, locomotie) worden geëuthanaseerd.
Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?
We schatten dat ca. 5 % van de dieren ernstig hartfalen kan ontwikkelen
K. Classificatie van ongerief
Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.
Slechts een klein aantal dieren krijgt ernstige problemen door o.a. hartfalen (5%) bij deze dieren bestempelen we het cumulatief ongerief als ernstig.
De overige muzien (95%) bestempelen we het cumulatief ongerief als matig.

Einde experiment

L. Wijze van doden
Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?
☐ Nee
XJa > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.
Voor onderzoek van organen
Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?
☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.					
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.					
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Volgnummer</th> <th style="text-align: left;">Type dierproef</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>3.4.4.4</td> <td>Life style</td> </tr> </tbody> </table>	Volgnummer	Type dierproef	3.4.4.4	Life style
Volgnummer	Type dierproef					
3.4.4.4	Life style					

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Naast directe oorzaken van hartfalen zoals drukbelasting en volumebelasting wordt hartfalen ook veroorzaakt door life style oorzaken zoals obesitas en diabetes melites type II. Hartziekte is dan ook de belangrijkste diabetes gerelateerde doodsoorzaak. In onze onderzoeksstrategie willen we hartfalen onderzoeken in de setting van deze life style gerelateerde factoren. Een hoog vet of suiker dieet verhoogt de kans op insuline resistentie en diabetes type II. De metabole veranderingen die hieraan zijn gelinkt verhogen de kans op hartfalen. De primaire uitkomsten in deze studies zijn cardiale hypertrofie en eventuele diastole dysfunctie. Secundair zal cardiale fibrose worden onderzocht.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Een veelgebruikt model van obesitas gerelateerde cardiale remodelering is een hoog vet en/of hoog suiker dieet, resulterend in insuline resistentie. Deze diëten geven hooguit een licht ongerief. Door middel van orale glucose tolerantie testen en bijbehorende bloedafname wordt bepaald of de mate van hyperglycemie voldoende is.

Binnen onze afdeling gebruiken we vrijwillige inspanning door middel van loopwielletjes als model voor inspanning. Gedurende de studie kunnen er loopwielletjes in de kooi geplaatst worden waar de dieren naar behoefte in kunnen lopen.

Omdat leeftijd een belangrijke factor is in het ontwikkelen van hartfalen kunnen deze studies ook aan oudere dieren verricht worden (1-2 jaar oud).

Medicamenteuze behandeling kan voor tijdens of na de verandering van life style beginnen. De frequentie

en aard van de behandeling is afhankelijk van de aard van de medicamenteuze stof en zijn farmacologische eigenschappen. Verschillende toedieningsvormen kunnen gebruikt worden: oraal via voer of drinkwater; gavage; via IP, IV, subcutane of intramusculaire injecties of via een osmotische minipomp. Indien mogelijk zal de toediening gekozen worden waarbij het ongerief voor de dieren zo laag mogelijk is, maar waarbij de gekozen dosering wel met redelijke zekerheid gewaarborgd is. Vehicle controles worden gebruikt en bevatten alleen het oplosmiddel van de stof. Deze controle dieren zullen net zo vaak gehanteerd worden en behandeld als de dieren die wel de werkzame stof krijgen.

Afhankelijk van de vraagstelling kunnen de dieren tot ca. 20 weken na aanvang van medicatie gevolgd worden. Cardiale functie kan tijdens deze periode op meerdere momenten in de tijd niet invasief worden bepaald aan geanesthezeerde dieren d.m.v. ECG, ECHO, MRI en in speciale gevallen m.b.v. microPET. De laatste is interessant indien metabole afwijkingen verwacht of geïdentificeerd worden. Het totaal van de niet invasieve methode zal doorgaans niet vaker dan 15 maal aan dezelfde muis worden uitgevoerd. Eventueel kunnen bloedmonsters genomen worden voor biomarker analyse. Dit zal gebeuren via de staart of orbita met een max. van <10% van het circulerend volume per twee weken. Voorafgaande aan het offeren van de dieren zullen doorgaans met een katheter P/V metingen worden uitgevoerd aan het geanesthezeerde dier, die vervolgens onder anesthesie geëuthanaseerd wordt. Indien continue bloeddruk metingen van belang zijn kan eventueel telemetrie worden toegepast. Alternatief kan telemetrie worden toegepast. Op deze manier kunnen we het effect van de medicatie op hartfunctie en welzijn van de dieren goed monitoren. Daarnaast kunnen dieren voor maximaal 24 uur in een metabolisme kooi gehuisvest worden voor het opvangen van feces en urine voor de bepaling van o.a. de renale functie (i.v.m. associatie van hartfalen en renale functie).

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

B. De dieren

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

Diersoorten: ratten en muizen

Herkomst: Aankoop van commerciële leveranciers of andere instellingen, via samenwerkingsverbanden, dan wel eigen fok.

Aantallen en levensstadia: Volwassen dieren. Gemiddeld verwachten we per jaar 3 life style experiment uit te voeren. Het zal dan om ca. 4 groepen (inclusief controle en placebo) x 20 dieren gaan (enigszins afhankelijk van primaire uitkomstmaat) . Is gemiddeld ca. 240 dieren/ jaar. Voor 5 jaar gaat het dan om 1200 dieren. Onderverdeeld in ca. 1000 muizen en 200 ratten.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

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

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

☐ Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij

het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: Het meeste voorwerk aan de medicamenteuze stoffen wordt in vitro uitgevoerd (bijv. ADME), maar effect op cardiale functie vereist dierstudies.

Vermindering: Zo min mogelijk dieren worden gebruikt d.m.v. powercalculatie en door het meenemen van ervaringen uit eerdere experimenten.

Verfijning: D.m.v. niet invasieve hartfunctie monitoring kunnen we de duur van het experiment eventueel verkorten (indien primaire eindpunt is bereikt).

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Goede monitoring

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Dit zijn experimenten met medicamenteuze stoffen die niet eerder in deze vorm zijn uitgevoerd. Dit weten we aan de hand van literatuur studies en via experts uit het veld.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

☐ Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

☐ Nee > Ga verder met vraag I.

☒ Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

☒ Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Bij het plaatsen van een minipomp wordt een eenmalige dosis FLunexin/Meglumine van 3 mg/kg s.c. gegeven.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Ja, herhaaldelijk toedienen van medicatie kan het welzijn aantasten. Indien mogelijk zal voor de meest diervriendelijke toedieningsvorm gekozen worden.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

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

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

☐ Nee > Ga verder met vraag K.

X Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Ja veroudering en overmatig gewicht en medicamenteuze behandeling kunnen tot problemen leiden. Bij dieren met afwijkend gedrag (gewichtsverlies > 15%, opstaande vacht, lethargie, locomotie) worden geëuthanaseerd.

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

We verwachten dat dit minder dan 2% zal zijn. Veroudering speelt hierin de belangrijkste rol

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Matig

Afhankelijk van de wijze van medicamenteuze behandeling en tezamen met het totaal van de niet invasieve behandelingen (meermaals onder anesthesie) kan dit als matig worden bestempeld

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

☐ Nee

X Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Ontnemen van organen voor verdere analyse

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja

Van: Info-zbo
Verzonden: vrijdag 15 april 2016 10:35
Aan: [REDACTED]
Onderwerp: Aanvullend advies aanvraag AVD105002016487

Beste DEC-RUG,

Enige tijd geleden zond u ons een advies betreffende aanvraag AVD105002016487, getiteld: Onderzoek naar therapeutische middelen om de vicieuze cyclus van hartfalen te doorbreken. Onze dank voor dit advies.

Wij hebben betreffende deze aanvraag nog 1 vraag voor u:

- In bijlage 1 beschrijft de aanvrager dat het uitvalspercentage bij de operatie door technisch falen op 10% ligt. Acht u dit een acceptabel uitvalspercentage? Is aan u bekend wanneer dit technisch falen kan worden opgemerkt (reeds tijdens de operatie, of pas aan het einde van het experiment)?

Tevens hebben wij enkele vragen gesteld aan de aanvrager:

- U heeft niet gespecificeerd of mannen dan wel vrouwen dan wel beide geslachten gebruikt zullen worden. De CCD vindt het van belang dat mannelijke en vrouwelijke dieren zoveel als mogelijk in gelijke aantallen gebruikt zullen worden. Kunt u specificeren van welk geslacht u de dieren zult gebruiken, en indien u niet beide geslachten gebruikt, kunt u dit dan onderbouwen.
- U heeft per bijlage alleen een totaal aantal dieren genoemd, zonder onderscheid te maken tussen ratten en muizen. Kunt u hier een splitsing in maken?
- U beschrijft in bijlage 2 en 3 dat een deel van de dieren ernstig hartfalen zal ontwikkelen. Zijn dit de dieren waarvoor u het ongerief inschat als ernstig? Kunt u in deze bijlagen onder vraag K een opsplitsing maken in een verwacht percentage dieren met matig dan wel ernstig ongerief?
- In bijlage 4 beschrijft u wel humane eindpunten, maar heeft u de vraag over welk percentage dieren dit HEP zal bereiken niet ingevuld. Gelieve dit alsnog te doen.
- De Niet technische samenvatting bij uw aanvraag bevat veel terminologie die bij het brede publiek niet bekend is (bijvoorbeeld maar niet uitsluitend: "de vicieuze cyclus van pathologische hypertrofie, fibrose en inflammatie", "cardiale remodelering", "niet-invasieve imaging". U wordt verzocht de tekst in de NTS te heroverwegen en minder specialistische terminologie te gebruiken.
- In de NTS lijkt het of bij vraag 4.2 een stukje tekst is weggefallen. Dit graag corrigeren.

Wij vragen u om in ieder geval te reageren op de vraag gericht aan u (betreffende het uitvalspercentage).

Uiteraard mag u ook een reactie geven op de aan de aanvrager gestelde vragen.

Voor een snelle afhandeling van het dossier vragen wij u om uiterlijk donderdag 21 april te reageren op deze vraag.

Met vriendelijke groet,

[REDACTED]

Centrale Commissie Dierproeven

Van: [REDACTED]
Verzonden: donderdag 21 april 2016 8:44
Aan: Info-zbo
Onderwerp: Re: Aanvullend advies aanvraag AVD105002016487

Beste [REDACTED]

Hierbij een reactie van de DEC op uw vraag, na ruggespraak met de IvD (zie hieronder)
Vr. Gr., namens de DEC-RUG,

[REDACTED]
[REDACTED]

In bijlage 1 van AVD105002016487 wordt vermeld dat bij het ondergaan van een thoracale aorta constrictie (TAC) of abdominale constrictie (AC) het uitvalspercentage door technisch falen 10% is. Wij zien twee oorzaken ten grondslag liggen aan dit uitvalspercentage, waarbij de eerste het meest voorkomt.

1: Het grootste deel van de uitval vindt plaats tijdens de ingreep. In twee verschillende stappen van het protocol komt de meeste technische uitval voor. Het eerste moment is de stap waarbij het bandje om het bloedvat gelegd wordt en de constrictie wordt gerealiseerd. Ook de stap waarbij het dier van de beademing afgehaald wordt en zelf moet gaan ademen is een lastige stap. Het lukt niet in alle gevallen om het dier weer spontaan te laten ademen.

2: De onderzoeksgroep heeft sinds kort een nieuwe biotechnicus. Hoewel deze biotechnicus zeker ervaren is, heeft zij nog geen specifieke ervaring met de TAC en AC procedures. In de beginfase verwachten wij nog enige uitval door het feit dat de procedure nog nieuw is voor de uitvoerende. Het tijds punt waarop we deze uitval verwachten is ook tijdens de operatieve ingreep.

Overigens vinden wij het uitvalspercentage nog steeds realistisch ingeschat

----- Oorspronkelijk bericht -----

Van: Info-zbo <info@zbo-ccd.nl>

Datum: 15-04-2016 10:35 (GMT+01:00)

Aan: [REDACTED]

Onderwerp: Aanvullend advies aanvraag AVD105002016487

Beste DEC-RUG,

Enige tijd geleden zond u ons een advies betreffende aanvraag AVD105002016487, getiteld: Onderzoek naar therapeutische middelen om de vicieuze cyclus van hartfalen te doorbreken. Onze dank voor dit advies.

Wij hebben betreffende deze aanvraag nog 1 vraag voor u:

- In bijlage 1 beschrijft de aanvrager dat het uitvalspercentage bij de operatie door technisch falen op 10% ligt. Acht u dit een acceptabel uitvalspercentage? Is aan u bekend wanneer dit technisch falen kan worden opgemerkt (reeds tijdens de operatie, of pas aan het einde van het experiment)?

Tevens hebben wij enkele vragen gesteld aan de aanvrager:

- U heeft niet gespecificeerd of mannen dan wel vrouwen dan wel beide geslachten gebruikt zullen worden. De CCD vindt het van belang dat mannelijke en vrouwelijke dieren zoveel als mogelijk in gelijke aantallen gebruikt zullen worden. Kunt u specificeren van welk geslacht u de dieren zult gebruiken, en indien u niet beide geslachten gebruikt, kunt u dit dan onderbouwen.

- U heeft per bijlage alleen een totaal aantal dieren genoemd, zonder onderscheid te maken tussen ratten en muizen. Kunt u hier een splitsing in maken?
- U beschrijft in bijlage 2 en 3 dat een deel van de dieren ernstig hartfalen zal ontwikkelen. Zijn dit de dieren waarvoor u het ongerief inschat als ernstig? Kunt u in deze bijlagen onder vraag K een opsplitsing maken in een verwacht percentage dieren met matig dan wel ernstig ongerief?
- In bijlage 4 beschrijft u wel humane eindpunten, maar heeft u de vraag over welk percentage dieren dit HEP zal bereiken niet ingevuld. Gelieve dit alsnog te doen.
- De Niet technische samenvatting bij uw aanvraag bevat veel terminologie die bij het brede publiek niet bekend is (bijvoorbeeld maar niet uitsluitend: "de vicieuze cyclus van pathologische hypertrofie, fibrose en inflammatie", "cardiale remodelering", "niet-invasieve imaging". U wordt verzocht de tekst in de NTS te heroverwegen en minder specialistische terminologie te gebruiken.
- In de NTS lijkt het of bij vraag 4.2 een stukje tekst is weggefallen. Dit graag corrigeren.

Wij vragen u om in ieder geval te reageren op de vraag gericht aan u (betreffende het uitvalspercentage). Uiteraard mag u ook een reactie geven op de aan de aanvrager gestelde vragen.

Voor een snelle afhandeling van het dossier vragen wij u om uiterlijk donderdag 21 april te reageren op deze vraag.

Met vriendelijke groet,



Centrale Commissie Dierproeven

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

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



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1, [REDACTED]

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

AVD105002016487

Bijlagen

1

Datum 3 mei 2016

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 18 maart 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Onderzoek naar therapeutische middelen om de vicieuze cyclus van hartfalen progressie te doorbreken" met aanvraagnummer AVD105002016487. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 12 april 2016 heeft u uw aanvraag aangevuld. Op ons verzoek heeft u uw NTS aangepast. Daarnaast heeft u geantwoord op de door ons gestelde vragen betreffende gebruik van beide geslachten in bijlage 1, verheldering van het aantal te gebruiken ratten en muizen, verheldering van de ongeriefsinschatting, en het percentage dieren dat humane eindpunten zal bereiken in de proeven beschreven in bijlage 4.

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 de afstemming van de go / no go momenten met de IvD wordt gesteld om onnodige inzet van dieren in dierproeven te voorkomen. De algemene voorwaarde betreffende artikel 10, lid 1 sub a 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 "Onderzoek naar therapeutische middelen om de vicieuze cyclus van hartfalen progressie te doorbreken" starten. De vergunning wordt afgegeven van 3 mei 2016 tot en met 31 maart 2021.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Beoordeling achteraf

Na afloop van het project zal er een beoordeling plaatsvinden, zoals bedoeld in artikel 10a1, lid 1d en lid 3, in de wet. Meer informatie over de eisen bij een beoordeling achteraf vindt u in de bijlage. Deze beoordeling achteraf zal plaatsvinden wegens potentieel ernstig ongerief voor een deel van de dieren.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-RUG gevoegd. Dit advies is opgesteld op 17 maart 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 21 april 2016 heeft de DEC gereageerd op onze vraag. Dit betrof nadere verheldering en visie van de DEC over het uitvalspercentage van de operatie beschreven in Bijlage 2.

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.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze nummers in de rechter kantlijn in deze brief.

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

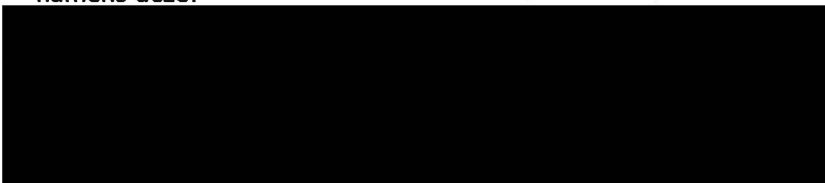
Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op

<http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

Meer informatie

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

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:



Bijlagen:

- Vergunning
- Hiervan deel uitmakend:
 - DEC-advies
 - Weergave wet- en regelgeving

Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Rijksuniversiteit Groningen

Adres: A. Deusinglaan 1, [REDACTED]

Postcode en plaats: 9713 AV GRONINGEN

Deelnemersnummer: 10500

deze projectvergunning voor het tijdvak 03 mei 2016 tot en met 31 maart 2021, voor het project "Onderzoek naar therapeutische middelen om de vicieuze cyclus van hartfalen progressie te doorbreken" met aanvraagnummer AVD105002016487, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-RUG. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Principal Investigator.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 18 maart 2016
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 12 april 2016;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 12 april 2016;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 17 maart 2016, ontvangen op 18 maart 2016, aangevuld op 15 april 2016.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 12 april 2016

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Cardiale druk belasting	Muizen (<i>Mus musculus</i>) /	1300	100% Matig	
Cardiale druk belasting	Ratten (<i>Rattus norvegicus</i>) /	300	100% Matig	
Cardiale ischemie	Muizen (<i>Mus musculus</i>) /	1200	20% Ernstig 80% Matig	
Cardiale ischemie	Ratten (<i>Rattus norvegicus</i>) /	800	20% Ernstig 80% Matig	
(Neuro)hormonaal	Muizen (<i>Mus musculus</i>) /	1200	100,00 % Matig	

(Neuro)hormonaal	Ratten (<i>Rattus norvegicus</i>) /	400	100% Matig	
Life style	Muizen (<i>Mus musculus</i>) /	1000	100% Matig	
Life style	Ratten (<i>Rattus norvegicus</i>) /	200	100% Matig	

Voorwaarden

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

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij die vallen in de categorie ernstig volgens artikel 10b van de wet en wordt daarom voorzien van beoordeling achteraf.

Deze beoordeling zal uiterlijk maart 2022 plaatsvinden. Er zal dan beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt. Daarnaast wordt bekeken of de schade die de dieren hebben ondervonden, het aantal en soorten proefdieren en de ernst de dierproeven conform de vergunning waren.

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

In artikel 10, lid 1 sub a 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.

Beoordeling achteraf

Volgens artikel 10a1, lid 1d en lid 3 van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld worden.



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan 1,
9713 AV Groningen

Centrale Commissie Dierproeven

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl

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

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD105002016487

Uw referentie

-

Bijlagen

1

Datum **13 JUN 2016**
Betreft Correctie op beschikking AVD105002016487

Geachte

Op 18 maart 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Onderzoek naar therapeutische middelen om de vicieuze cyclus van hartfalen progressie te doorbreken" met aanvraagnummer AVD105002016487.

Op 3 mei 2016 heeft u de beschikking en vergunning op uw aanvraag ontvangen. Op 23 mei 2016 heeft de secretaresse van uw CPD/DEC contact met ons opgenomen omdat er een inconsistentie tussen de vergunning en de laatste versie van de projectaanvraag was geconstateerd.

In de vergunning is voor bijlage 3 (Neuro)hormonaal bij zowel muis als rat een ongerief van 100% matig vermeld. In de bijlage zelf staat echter dat er sprake is van 5% ernstig en 95% matig ongerief. Deze ongeriefsinschatting is aangepast naar aanleiding van vragen gesteld door de CCD, maar is na de aanpassing niet correct in de vergunning terecht gekomen. Het gaat hier om een kennelijke verschrijving in de vergunning.

De correcte ongeriefsinschatting voor de proef (Neuro)hormonaal is voor zowel muizen als ratten 5% ernstig en 95% matig.
De verleende vergunning verandert hiermee als volgt (wijziging vetgedrukt):

Naam proef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst
(Neuro)hormonaal	Muizen (<i>Mus musculus</i>)	1200	5% ernstig 95% matig
(Neuro)hormonaal	Ratten (<i>Rattus norvegicus</i>)	400	5% ernstig 95% matig

Voor het overige blijft de vergunning ongewijzigd.

Bewaart u deze brief bij uw vergunning.

De Centrale Commissie Dierproeven



M. G. de Pater
Algemeen secretaris

Datum

13 juni 2016

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD105002016487