

Begeleidingsformulier aanvraag dierproef DEC- UM

DECNR: 2011-144

Versie 2006

Herziene versie

Ontvangen: 10-11-2011

DEC datum goedkeuring#	Type aanvraag 2	VROM/GGONR ³	LNV/CBDNR ⁴
14-11-2011	Nieuw		

Hoofdproject	CARIM					
--------------	-------	--	--	--	--	--

Deelproject	3.					
-------------	----	--	--	--	--	--

Financieel beheerder		Budgetnummer	30983307 N
----------------------	--	--------------	------------

Titel van het onderzoek:

Het isoleren van organen en bloedvaten ter bestudering van de expressie van NADPH oxidases en soluble guanylaat cyclase (sGC) in Sprague-Dawley ratten.

 startdatum 1-11-2011 einddatum 9 1-11-2015 Duur van de proef¹⁰: 1 dag

	Naam	Tel (+ Tel privé enkel VO, VVO en VM)	E-mailadres	Bevoegd- heid ⁵	Cap. groep /afdeling
1. Verantwoordelijk onderzoeker (VO)				Art.9	
2. Vervanger VO (VVO)				Art.9	
3. Verantwoorde- lijk medewerker (VM) GGO ⁷					
4. overige uitvoerenden				Art.12 ⁸	
5. PI and hoofd					

Diergroep	1	2					
exp							
Diersoort	02						
Stam	Sprague Dawley						
Construct / mutatie ?	nvt						
Herkomst (leverancier) *	Harlan						
Aantal	18						
Geslacht	man						
Dieren immuuncompetent ?	ja ⁸						
Leeftijd/gewicht	8-12 week						
Doel van de proef *	31						
Belang van de proef *	01						
Toxicologisch onderzoek *	01						
Bijzondere technieken *	02						
Anesthesie *	01						
Pijnbestrijding *	01						
Mate ongerief *	01						
Toestand dier einde exp*	01						

* VHI-coderingen zie bijlage

1 Verantwoording

Aanvraag dierproef DEC-UM (kaders zijn licht flexibel, maar het geheel is max. 5 pag. versie 2006)

Titel: . Het isoleren van organen en bloedvaten ter bestudering van de expressie van NADPH oxidases en soluble guanylaat cyclase (sGC) in Sprague-Dawley ratten.

1. Doel van de proef.

Het doel van onze proeven is om diverse bloedvaten en organen van Sprague-Dawley ratten te isoleren om daarin de expressie (mRNA levels, eiwit levels en enzymatische activiteit) van NADPH oxidases (NOX isovormen) en van soluble guanylate cyclase (sGC) te bepalen.

De experimenten maken deel uit van een grotere studie die in Australië gestart werd en waarbij mannelijke Sprague-Dawley ratten van Harlan werden gebruikt met als doel NOX en sGC te valideren als targets voor de diagnose en therapie van hart- en vaatziekten. Om alle gegevens met elkaar te kunnen combineren en vergelijken verkiezen we dan ook specifiek de Sprague-Dawley stam van dezelfde leverancier als in Australië (Harlan).

2. Maatschappelijke relevantie en/of wetenschappelijk belang



Het bestuderen van expressie levels van NOX of sGC is als zodanig fundamenteel onderzoek. Echter, zoals aangegeven maken deze experimenten deel uit van een grotere studie die gericht is op het valideren van NOX en sGC isovormen als targets voor de therapie en diagnose van hart- en vaatziekten. Als zodanig kunnen de onderzoeksgegevens dan ook bijdragen aan het ontwikkelen van nieuwe diagnostische en therapeutische middelen voor hart- en vaatziekten.

3. Alternatieven

De studie betreft onderzoek naar de expressie van enzymen in organen in een normale setting. Daarom zullen organen en bloedvaten geïsoleerd moeten worden. Cellijnen volstaan niet vanwege het feit dat expressie-levels en vaak ook de differentiatie van de cellen mede bepaald worden door communicatie vanuit elders in het organisme (o.a. door hormonen). Gebruik van humaan materiaal is vrijwel niet mogelijk, aangezien men voor het verkrijgen van organen of bloedvaten merendeels post-mortem materiaal (voor zover dat al te verkrijgen is) zou moeten gebruiken waarin expressie-levels niet/nauwelijks te bepalen zijn vanwege onvermijdelijke eiwitaafbraak (wegens verstreken tijd voor sampling).

4. Ethische afweging

Tegenover het opofferen van de dieren en het ongerief dat de dieren ondervinden staat het feit dat de verkregen onderzoeksgegevens inzicht zullen verschaffen in de fysiologische en pathofysiologische rol van NOX en sGC isovormen bij de vaatfunctie en bij hart- en vaatziekten en dat mede hierdoor nieuwe diagnostische en therapeutische middelen voor hart- en vaatziekten ontwikkeld kunnen worden, wat kan bijdragen aan een vermindering van de afgenomen levenskwaliteit en sterfte ten gevolge van deze ziektes bij de mens. Het ongerief van de dieren is slechts gering aangezien de handelingen met de dieren beperkt blijven tot het opofferen van de dieren middels koolstofdioxide vergassing. Daarom weegt –ons inziens- het belang van dit onderzoek zwaarder dan het geringe ongerief bij de dieren.

2 Wetenschap

5. Wetenschappelijke onderbouwing

NADPH oxidasen zijn de belangrijkste bron van de productie van zuurstof radicalen (reactive oxygen species) in het lichaam. In bloedvaten vindt men van de katalytische NADPH oxidase subunit NOX verschillende isovormen: NOX1, NOX2, NOX4 en NOX5 (de laatste vorm niet bij ratten of muizen). Er zijn sterke aanwijzingen dat deze NOX isovormen een grote rol spelen bij hart- en vaatziekten, al lijken ze soms ook een beschermende functie te kunnen hebben. Hoewel het bekend is dat er verschillende NOX isovormen in bloedvaten aanwezig zijn, is er vrijwel geen informatie daarover in hoeverre de NOX expressie verschilt tussen vaatbedden en tussen de diverse types van bloedvaten (b.v. groot versus klein, weerstandsvaten versus elastische vaten).

Soluble guanylaat cyclase (sGC) speelt een belangrijke rol bij vaatverwijding door stikstofoxide (NO) en is daarmee een belangrijke schakel in de regulatie van de reactiviteit van bloedvaten. Bij hart- en vaatziekten ziet men vaak dat de expressie van sGC veranderd is of dat het sGC beschadigd is, mede door toedoen van radicalen. Als gevolg hiervan kunnen de bloedvaten zich niet meer adequaat verwijden als dat nodig of gewenst is. Ook van sGC zijn enkele vormen bekend en ook hiervoor geldt dat hun orgaan/bloedvat expressie en functie maar gedeeltelijk bekend zijn.

De experimenten zijn onderdeel van een grotere studie die in Australië gestart werd met als hogere doel om NOX en sGC isovormen te valideren als targets voor de therapie en diagnose van hart- en vaatziekten.

6. Wetenschappelijke beoordeling

Dit specifieke project werd goedgekeurd door

(

3 Proefdier

7. Proefdier keuze

7a. Soort, stam / herkomst / eindbestemming

Soort, stam en herkomst: De experimenten maken deel uit van een grotere studie die in Australië gestart werd en waarbij mannelijke Sprague-Dawley ratten van Harlan werden gebruikt. Om alle gegevens met elkaar te kunnen combineren en vergelijken verkiezen we dan ook specifiek de Sprague-Dawley stam van dezelfde leverancier als in Australië (Harlan). Weliswaar is er een door de CPV opgesteld DEC protocol voor het opofferen van dieren ter verkrijging van organen, maar dit betreft ~~alle dieren die bij de CPV aanwezig zijn en indien mogelijk hergebruikt kunnen worden uit andere studies~~, echter naar ons bekend zijn dit geen Sprague-Dawley ratten van l

Eindbestemming: Na levering van de dieren en korte (reguliere) huisvesting bij de CPV zullen de dieren worden opgeofferd ter verkrijging van organen en bloedvaten.

7b. Sexe

De experimenten maken deel uit van een grotere studie die in Australië gestart werd en waarbij mannelijke ratten werden gebruikt. Om alle gegevens met elkaar te kunnen combineren en vergelijken verkiezen we dan ook in eerste instantie mannelijke ratten. Of er wat betreft de expressie van NOX en sGC verschillen bestaan tussen man en vrouw is een aparte onderzoeksvraag, waarop we pas in vervolgstudies in zouden willen gaan.

7c. Aantallen

Omdat de expressie van NOX en sGC zowel op het niveau van genexpressie (mRNA levels), eiwitniveau (Western blotting en immunohistochemie) en enzymactiviteit zal worden bestudeerd en de weefsel opwerkingsprocedure voor verschilt voor RNA isolatie (6 dieren), (immuno)histochemie (6 dieren) en eiwit- of actief enzym isolatie (6 dieren) is er een totaal van 18 dieren nodig om voldoende materiaal te kunnen verkrijgen voor alle analyses.

4 Dierproef

8. Experiment

Het experiment betreft opoffering van de ratten ter isolatie van bloedvaten en organen voor verdere analyse (bepalen van gen expressie van NOX en sGC vormen middels RNA isolatie en Q-RT-PCR, NOX en sGC eiwit levels middels immunohistochemie en Western blotting, NOX en sGC activiteitsbepaling middels enzymatische assays). Opoffering van de dieren vindt plaats binnen 2 weken nadat de dieren door de CPV zijn vrijgegeven.

9. Experimentele condities

9a. Anesthesie

Er wordt geen extra anesthesie (naast koolstofdioxide) toegepast aangezien de dieren worden opgeofferd middels vergassing met koolstofdioxide (bijzondere techniek, code 02). Tijdens dit proces raken de dieren spoedig bewusteloos en sterven kort daarna.

9b. Pijnbestrijding

Niet van toepassing omdat de dieren geen andere handelingen ondergaan dan opoffering door koolstofdioxide vergassing.

9c. Euthanasie en Humane eindpunten

De afzender aanvaardt de aansprakelijkheid voor de juistheid van de inhoud van de afzender afgegeven informatie en aanvaardt de aansprakelijkheid voor de juistheid van de afzender afgegeven informatie en aanvaardt de aansprakelijkheid voor de juistheid van de afzender afgegeven informatie.

Zorg

10a. Ongerief



Er is sprake van opoffering door koolstofdioxide vergassing. Daarom is het totale ongerief gering (code 1).

10b. Welzijnsevaluatie

Aangezien er geen andere handelingen dan opoffering van de dieren plaats zal vinden is een welzijnsevaluatie niet noodzakelijk. Uiteraard zullen de dieren door de CPV wel routinematig worden gecontroleerd (op tekenen van onverhoopte “spontaan” optredende ziekte of ongerief).

11. Verzorging en huisvesting

De dieren worden op de standaardwijze bij de CPV gehuisvest en binnen 2 weken na vrijgave door de CPV opgeofferd.

12. Deskundigheid

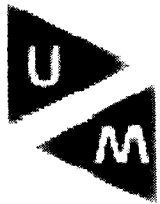
Opoffering van de dieren zal gedaan worden door een Artikel 9 of Artikel 12 functionaris van

13. Standard Operation Procedures (SOP)

Niet van toepassing (betreft opoffering door vergassing met koolstofdioxide).

Relevante literatuur

Eventueel een kopie bijvoegen.



University Maastricht

Faculty of Health, Medicine
and Life Sciences

Dierexperimenten Commissie

DEC

Aan:

voorzitter
p/a Secretariaat DEC-UM
Postbus 616
NL-6200 MD Maastricht
Telefoon:

Uw referentie:

Onze referentie

Maastricht, 26-10-2011

Geachte Onderzoeker,

Uw projectaanvraag: *“Het isoleren van organen en bloedvaten ter bestudering van de expressie van NADPH oxidases en soluble guanylaat cyclase (sGC) in Sprague-Dawley ratten”*, is op de DEC vergadering van 21 oktober 2011 besproken.

De DEC heeft een aantal vragen en opmerkingen:

- De code voor bijzondere technieken op het voorblad moet 02 zijn.
- De DEC verzoekt het woord “potentiële” in de eerste regel bij punt 4 te verwijderen.
- De DEC verzoekt de humane eindpunten meetbaar te definiëren.
- Bij punt 7a verzoekt de DEC het woord “overcomplete” aan te passen in “indien mogelijk hergebruik uit andere dierstudies”.
- Punt 9a- De DEC verzoekt bij koolstofdioxide “02” toe te voegen.

Gelieve eventuele vragen te beantwoorden in een brief en indien noodzakelijk Uw project aan te passen en duidelijk de aanpassingen grijs te markeren.

Uw project staat bij de DEC geregistreerd onder nummer 2011-144, gelieve dit nummer in verdere correspondentie te vermelden.

Hoogachtend,

Voorzitter DEC-UM


Antwoord van de onderzoekers aan de vragen en opmerkingen van de DEC naar aanleiding van DEC protocol 2011-144, besproken op de vergadering van 21 oktober 2011.

Allereerst willen de onderzoekers de DEC bedanken voor het doornemen en behandelen van onze DEC aanvraag.

Hieronder volgen de door de DEC gestelde vragen en/of de gemaakte opmerkingen en onze respons daarop. In het DEC protocol zelf zijn de nodige aanpassingen gemaakt (zoals ook in ons antwoord omschreven) die voor de duidelijkheid in het aangepaste DEC-protocol grijs gemarkeerd zijn.

- De code voor bijzondere technieken op het voorblad moet 02 zijn.

Respons onderzoekers: Het voorblad is corresponderend aangepast en de gemaakte wijziging is grijs gemarkeerd.

- De DEC verzoekt het woord "potentiële" in de eerste regel bij punt 4 te verwijderen.

Respons onderzoekers: Dit woord is in het aangepaste DEC protocol verwijderd.

- De DEC verzoekt de humane eindpunten meetbaar te definiëren.

Respons onderzoekers: In verband hiermee is de hele sectie 9c aangepast. In het aangepaste protocol is de tekst grijs gemarkeerd. De tekst van deze sectie is nu als volgt:

"De dieren worden gedurende hun verblijf bij de CPV regelmatig worden geïnspecteerd. Er zijn geen ziektebeelden te verwachten, het betreft acute opoffering van gezonde dieren, waar geen handelingen mee worden verricht, anders dan standaard huisvesting en verzorging bij de CPV. Mochten er desalniettemin onverhoopte tekenen van ongerief of ziekte optreden, dan zal de Artikel 14 functionaris worden verwittigd en geconsulteerd. Bij tekenen van vermagering (>15% gewichtsverlies), lethargisch gedrag, ernstige ademhalingsmoeilijkheden of rochelen, in elkaar gedoken houding in combinatie met tandenknarsen, ernstige verwondingen, ernstige bloedingen of ernstige ontstekingen zullen de dieren worden opgeofferd middels vergassing met koolstofdioxide (bijzondere techniek, code 02) en zal de Artikel 14 functionaris op de hoogte worden gesteld."

- Bij punt 7a verzoekt de DEC het woord “overcomplete” aan te passen in “indien mogelijk hergebruik uit andere dierstudies”.

Respons onderzoekers: De tekstpassage is aangepast en de betreffende passage is grijs gemarkeerd.

- Punt 9a- De DEC verzoekt bij koolstofdioxide “02” toe te voegen.

Respons onderzoekers: In de betreffende tekst-passage is nu achter kooldioxide toegevoegd (bijzondere technieken, code 02). Deze toevoeging werd overigens ook in secties 9b en 9c van het aangepaste DEC protocol gedaan. E.e.a. is grijs gemarkeerd in het aangepaste DEC protocol.

Wij hopen dat met deze aanpassingen ons voorstel door de DEC zal worden geaccepteerd.

Met vriendelijke groet,

Aan:

Ons kenmerk

Doorkiesnummer

Maastricht
16-11-2011

Project: *Het isoleren van organen en bloedvaten ter bestudering van de expressie van NADPH oxidases en soluble guanylaat cyclase (sGC) in Sprague-Dawley ratten.*

DEC-UM
Voorzitter DEC-UM

p/a secretariaat DEC-UM

Verantwoordelijk onderzoeker (VO):

Secretariaat DEC-UM

Namens de Vergunninghouder van de DEC-UM, delen wij u mede dat voornoemd project aan de ethische toetsingscriteria voor proefdiergebruik voldoet.

Bezoekadres

De DEC maakt geen bezwaar tegen uitvoering van dit project zoals aangevraagd en geeft een positief advies.

Postadres
Postbus 616
6200 MD Maastricht

Projectnummer: 2011-144

Diersoort: rat

Aantal dieren: 18

Einddatum: 14-11-2015

Uw project staat bij de DEC en CPV geregistreerd onder bovenstaand nummer. Gelieve dieren, die voor dit project bestemd zijn, ook onder dit nummer aan te vragen.

Voorzitter DEC-UM

Vicevoorzitter DEC-UM