

72

Begeleidingsformulier aanvraag dierproef DEC- UM

DECNR: 2011-160

Versie 2006

Herziene versie

Ontvangen: 09-02-2012

DEC datum goedkeuring#	Type aanvraag 2
12-02-2012	Nieuw

VROM/GGONR ³

LNV/CBDNR ⁴

Hoofdproject	CARIM	NUTRIM	Hersenen en gedrag	GROW	biomaterialen	Ander UM	Geen UM
--------------	-------	--------	--------------------	------	---------------	----------	---------

Deelproject	Cardiac hypertrophy and heart failure	1. 2. 3. 4.	1. 2. 3.	1. 2. 3.			
-------------	---------------------------------------	-------------	----------	----------	--	--	--

Financieel beheerder		Budgetnummer	30982298 N
----------------------	--	--------------	------------

Titel van het onderzoek:

Identification of new molecular players and biomarkers in pulmonary arterial hypertension and subsequent right ventricular remodelling.

startdatum 01-03-2012

einddatum 9 29-02-2016

Duur van de proef¹⁰:

3 mnd

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

Diergroep	1	2	3	4			
ctrl/exp/sham	Ctrl	Ctrl+dieet	Exp	Exp+ dieet			
Diersoort	01	01	01	01			
Stam	C57BL/6	C57BL/6	C57BL/6	C57BL/6			
Construct / mutatie ?	nvt	nvt	nvt	nvt			
Herkomst (leverancier) *	01	01	01	01			
Aantal	17	17	20	20			
Geslacht	m/v	m/v	m/v	m/v			
Dieren immuuncompetent ?	ja	ja	ja	ja			
Leeftijd/gewicht	vanaf 12 wk	vanaf 12 wk	vanaf 12 wk	vanaf 12 wk			
Doel van de proef *	31	31	31	31			
Belang van de proef *	01	01	01	01			
Toxicologisch onderzoek *	01	01	01	01			
Bijzondere technieken *	01	01	01	01			
Anesthesie *	04	04	04	04			
Pijnbestrijding *	01	01	01	01			
Mate ongerief *	04	04	05	05			
Toestand dier einde exp*	01	01	01	01			

1 Verantwoording

Aanvraag dierproef DEC-UM

Titel: Identification of new molecular players and biomarkers in pulmonary arterial hypertension and subsequent right ventricular remodelling.

1. Doel van de proef.

Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a progressive disease of the pulmonary vascular system leading to right ventricular (RV) failure and ultimately death. The outcome is predominantly determined by the development of RV failure. It is therefore of imperative value to detect RV failure at an early stage of the disease. Currently biomarkers to detect RV failure at an early stage are lacking.

Despite developments in therapeutic options for patients with PAH, the prognosis remains poor. (1) We need to have a better understanding of the molecular and pathophysiological mechanisms involved in PAH in order to provide new therapeutic targets.

We have previously shown that microRNAs are involved in left ventricular remodeling. (2)

MicroRNAs (miRs) are small, non-coding RNA molecules that post-transcriptionally regulate gene expression by base-pairing to target messenger RNAs (mRNAs).

We hypothesize that there are (molecular) biomarkers for the early detection and evaluation of progression and prognosis of pulmonary arterial hypertension (PAH).

We also hypothesize that there are specific microRNAs which are involved in the development of pulmonary arterial hypertension (PAH) and subsequent right ventricular (RV) failure.

The aim of this study is 1) to find specific biomarkers for pulmonary arterial hypertension (PAH) and subsequent right ventricular (RV) failure, as well as 2) find microRNAs involved in the development of right ventricular failure.

2. Maatschappelijke relevantie en/of wetenschappelijk belang

Heart failure (HF) is the epidemic of the century. Most research into the pathophysiologic mechanisms behind heart failure has been done into left ventricular failure. It is therefore that treatment of patients with left ventricular failure is established, whereas this is not the case for RV failure. Accordingly, survival has improved for patients with impaired ejection fraction, but this same improvement is not seen in other forms of heart failure.

For patients who do receive treatment, the prognosis remains poor, underlining the importance of early detection and more superior treatment options.

Therefore, it is imperative to identify patients with RV heart failure at an early stage and to gain better insight into the molecular mechanisms that drive PAH and RV failure in order to provide better therapeutic options and improve disease prognosis.

3. Alternatieven

Because the model we want to investigate is right ventricular failure, it is impossible to do this research in vitro. Even though hypertrophy can be induced in cardiomyocytes kept in culture, no distinction can be made between left and right ventricular hypertrophy. It is therefore necessary to use an animal model. Our knowledge and technical possibilities for cardiovascular research in mice is substantial, making a mouse model highly suitable for answering our research question.

4. Ethische afweging

Heart failure is a leading cause of morbidity and mortality in the Western world. Most of the

research efforts on heart failure in the past decade have focused on left ventricular (LV) failure. Consequently, patients suffering from RV failure have a poor prognosis. Gaining insight into the molecular and pathological mechanisms involved in RV failure would hugely benefit the management of patients with PAH and RV failure. Furthermore, it will provide the scientific community with an innovative insight into the biology of microRNAs and the pathophysiology of cardiac remodeling. Because microRNAs are able to target many mRNAs and are therefore involved in multiple biological processes and diseases, the data generated by the proposed study will eventually apply in other fields of disease research (e.g. cancer, inflammatory diseases, neurodegenerative diseases etc.).

The scientific profit and potential clinical application justify the use of these animals to achieve the above mentioned study goals especially because human and cellular alternatives are not an option.

5. Wetenschappelijke onderbouwing.

Patients with pulmonary arterial hypertension (PAH) have a poor prognosis (mortality rate 30-40% 3 years after diagnosis). The main reason for this poor prognosis is the lack of understanding of the pathophysiological mechanisms involved in the development of PAH and subsequent RV failure. It is known that the pathophysiology of PAH is multifactorial and eventually leads to vasoconstriction, proliferative and obstructive remodeling of the vessel wall, inflammation and thrombosis. Although we know which downstream mechanisms evoke these vascular changes, i.e. through inhibition of production of vasodilators (prostacyclin, nitric oxide) and overexpression of vasoconstrictors and proliferative substances (endothelin-1), it is unknown which upstream mechanisms initiate this cascade.

During recent years, the treatment of PAH has changed dramatically, creating a need to evaluate the course of disease and response to treatment. The two most common non-invasive parameters used to follow the clinical course and response to treatment are the 6-minute walk distance and the World Health Organization (WHO) functional class, although both are known to be inaccurate. Biomarkers are a very promising tool to identify RV failure at an early stage and to estimate disease progression and prognosis. Additionally, the discovery of biomarkers for early RV failure will add the pathophysiological understanding of the disease.

Plasma brain natriuretic peptide or N-terminal fragment of proBNP (NT-proBNP) as well as troponins (Tn) are established biomarkers for left ventricular heart failure, and have previously been shown to be promising biomarkers to evaluate the prognosis of PAH. However, these biomarkers do not seem to be an early sign of disease or an indicator of disease progression. There are several new promising biomarkers for PAH, including markers for minor cardiomyocyte injury, endothelial dysfunction, tissue remodeling and oxidative stress. However, since the initiating triggers for PAH and RV failure are unknown, it is not clear which of these biomarkers are best suited for early detection and assessment of prognosis.

The recent discovery of a novel class of small RNA molecules (microRNAs) could provide a valuable insight into the upstream mechanisms involved in the initiation of the previously described vascular changes. MicroRNAs are non-coding, 22 nucleotide long RNAs that mediate their effect on a post-transcriptional level (as opposed to a transcriptional level) by binding to the complementary seed region on the 3' untranslated region (3' UTR) of its target messenger RNA (mRNA) transcript and hereby target the mRNA for cleavage or translational repression. We have recently shown that microRNAs are involved in left ventricular remodeling.

In summary, current lack of understanding of pathophysiological processes involved in the initiation of PAH and RV failure, as well as the lack of available biomarkers for RV failure, have lead to poor prognosis of the disease. It is therefore that we aim to find biomarkers and previously unknown molecular players for RV failure, in order to provide a tool for early detection and evaluation of prognosis, as well as provide new therapeutic targets.

To test our hypothesis we will expose mice to hypoxia which will induce pulmonary artery remodeling and RV hypertrophy. Half of the mice exposed to hypoxia will also be put on a restricted copper diet. A low copper diet has previously been shown to induce increased right ventricular failure in mice.(3-5)

6. Wetenschappelijke beoordeling

This study has been judged and approved by the PI .

5 Proefdier

7. Proefdier keuze

7a. Soort, stam / herkomst / eindbestemming

We will use adult mice (> 12 weeks of age): C57BL/6. The animals will be provided from Harlan and at the end of the study, the animals will be submitted to euthanasia and tissues and plasma will be collected for further analysis.

7b. Sex

Mice of both sexes will be used preventing unnecessary extra breeding.

7c. Aantallen

For the sample size calculation (according to L. Sarchs, , $N=2[(Z_{\alpha/2}-Z_{\beta})^2/(\delta/\sigma)^2]$), we will consider previous experience from our laboratory to determine the expected difference between groups and variance. The read-out parameter we have used for the power calculation is right ventricular (RV) failure.

Power calculation: a variation coefficient (s) of 20 %, difference in experimental parameters (δ) of 20 %, α of 5%, and a power of 80% (p), results in 16 animals per group.

Considering a 20% loss during follow up in the hypoxia group and 5% in the normoxia group, the total amount of animals we need is: 20 in the hypoxia groups and 17 in the normoxia groups.

The experiment protocol includes 2 normoxia and 2 hypoxia groups. The total amount of animals is $2 \times 20 + 2 \times 17 = 74$ mice.

6 Dierproef

8. Experiment

Total amount of animals:

Genotype	Experiment	Number of animals
WT	Normoxia + normal diet	17
	Normoxia + copper restricted diet	17
	Hypoxia + normal diet	20
	Hypoxia + copper restricted diet	20
		Total number: 74

Experimental setup:

We will have two groups of mice: normoxia and hypoxia. Half of the mice in these groups will additionally be put on a copper restricted diet.

Hypoxia/normoxia

After weaning, the mice will be housed in cages in a group setup that is the same as during the experimental setup in order to avoid territorial behavior and to enable social housing conditions for the mice.

When the mice are 12 weeks old, the experiment will start by gradually exposing the mice in the hypoxia group (H) to hypoxia: the first 24h 12% O₂, the next 89 days 10% O₂.

The mice from the normoxia group (N) will be kept under normoxic conditions.

Half the mice from both groups (N + H) will be put on a copper restricted diet from the start of the experiment. The remainder of the mice will be put on a normal diet. All the mice will have free access to water and feed.

It is known that hypoxia influences the food intake of mice. We will therefore introduce a pair-feeding protocol for the normoxia group. This will entail that the mice in the normoxia group will be offered the same amount of feed as consumed by the hypoxia group.

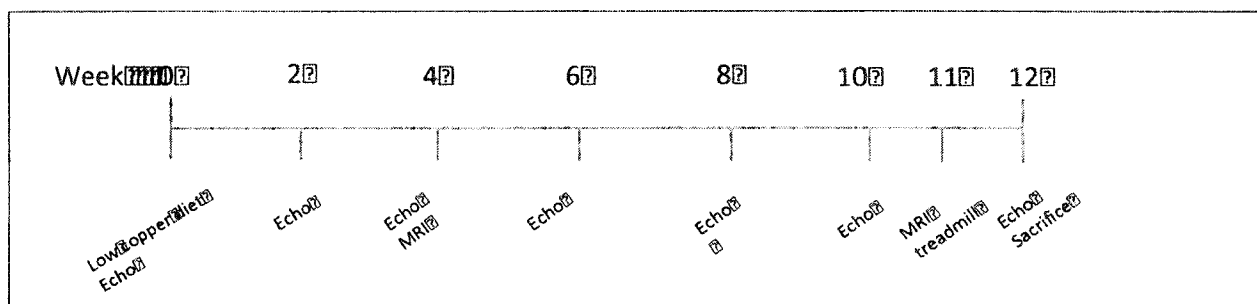
The total length of the experiment will be 90 days. During the experiment the mice will be carefully monitored for signs of heart failure (echocardiography, MRI, body weight). In the case that the mice suddenly go into full blown heart failure and the survival rate sharply decreases, the experiment will be terminated prematurely and the mice will be euthanized.

The mice will be weighed twice a week, with body weight also being an indicator of wellbeing of the animals.

The development of RV failure will be monitored using echocardiography at baseline, every 2 weeks and before sacrificing the animals. Right ventricular function will also be assessed using magnetic resonance imaging (MRI) at week 4 of the experiment and one week before termination of the experiment.

To test exercise endurance of the normoxia versus hypoxia animals, the mice will be put on a treadmill at the end of the experiment (week 11 if all 12 weeks of the experiment are completed), on which they will run on a voluntary basis during a period of 24 hours. During these 24 hours, the total distance and the average speed will be recorded.

In the case of early termination of the experiment due to the development of RV heart failure, MRI and the treadmill endurance test will be performed before the animals are sacrificed.



9. Experimentele condities

9a. Anesthesie

During echocardiography and MRI, the mice will be placed under general anesthesia through isoflurane inhalation (induction 3-4%, maintenance 1.5-2.5%). The anesthesia is a mix with medical air and is administered through a face mask. If necessary, oxygen will also be added to the anesthesia mix. The depth of anesthesia is constantly controlled by testing of eye and toe reflex.

9b. Pijnbestrijding

Even though the hypoxia group will be exposed to hypoxia, these mice will not experience any pain. Analgesia is therefore not indicated. The animals will also not experience any pain during echocardiographic evaluation or MRI.

9c. Euthanasie en Humane eindpunten

From previous experience with hypoxia in other research groups, we expect a mortality rate of 20% in the hypoxia group.

For both the normoxia and hypoxia groups, we will look at the wellbeing of the mice. If animals develop apathy or have serious weight loss (-30%), they will be euthanized. A humane end point will also be reached when the animals show severe dyspnea.

At the end of the study, the animals will be sacrificed by cervical dislocation under anesthesia (after final echocardiographic exam).

Organs will be collected for further analysis, so that re-use of the mice is unfeasible. We will also collect the plasma of the mice.

A person with WOD art. 12 and/or a person with WOD art. 14 will be consulted to determine if euthanasia is necessary.

10a. Ongerief

	Nature	Duration	Frequency	Discomfort
Echocardiography	Anesth.	30 min	7* (baseline; every 2 wk)	02
MRI	Anesth.	1 hour	2* (wk 4; wk 11)	02
Anesthesia procedure for euthanasia	Anesth.		1*	02
Treadmill			1*	02
Hypoxia		12 weeks	12 weeks	03
Development heart failure				05

The animals will experience moderate discomfort following echocardiography, MRI and treadmill. Moderate discomfort will be experienced in the hypoxia group, however in the event of fully developed RV failure, the mice will experience severe discomfort. The total discomfort is therefore quantified as severe (score 5).

In total the discomfort level is classified as : 5

10b. Welzijnsevaluatie

The weight (measured twice a week in both the normoxia and hypoxia groups) will be used to assess the wellbeing of the mice. Animals will also be checked to see if they experience discomfort (hunching, hairs standing up, poor fur etc). Near the end of the experiment,, the animals may develop heart failure, characterized by cachexia, increased respiratory rate, lack of physical activity, edema in the legs, and poor fur. A person with WOD art.12 and/or a person with WOD art. 14 will be consulted to determine if euthanasia is necessary in the case that animals display any of the above symptoms.

11. Verzorging en huisvesting

The animals will be provided by _____ laboratories. The mice will be housed in cases that have been specially built for the hypoxic conditions. Normoxic and hypoxic conditions will be housed in the same types of cases. CO₂ and O₂ will be regulated. Inside the special cases, the mice will be housed in standard cages holding 4 mice together. Mice will be allowed free access to water and food.

12. Deskundigheid

Echocardiography exams and other procedures (euthanasia, MRI) will be performed by a zoological technician, _____ (art. 12), _____ Assistant Professor (art. 9) and _____ cardiologist (art.9), from the Department of _____ and with extended experience in animal research.. In case of emergency / questions on the condition of the animals, we will contact a person with WOD art.12 and/or a person with WOD art. 14.

13. Standard Operation Procedures (SOP)

All procedures described bellow will be in accordance to the _____ established by the University of Maastricht (www.cpv.unimaas.nl):

Relevante literatuur

- Galie et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. European Heart

Journal 30: p 2493-2537 (2009)

2. Da Costa Martins et al. MicroRNA-199b targets the nuclear kinase Dyrk1A in an auto-amplification loop promoting calcineurin/NFAT signaling. *Nat Cell Biol* 12:p 1220-27 (2010)
3. Bogaard et al. Chronic pulmonary artery pressure elevation is insufficient to explain right heart failure. *Circulation* 2009, 120:1951-1960
4. Stenmark et al. Animal models of pulmonary arterial hypertension: the hope for etiological discovery and pharmacological cure. *Am J Physiol Lung Cell Physiol* 2009 Dec; 297(6):L1013-32
5. Drake et al. Molecular signature of a right heart failure program in chronic severe pulmonary hypertension. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011 Dec 45(6):1239-47.

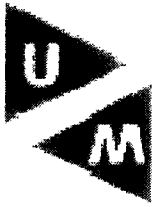


Hypoxie van de muis

- Muizen worden tijdens het experiment gehuisvest in aparte ruimtes (kasten) die speciaal gemaakt zijn voor hypoxische condities.
- Normoxische en hypoxische condities worden in dezelfde type kasten gehuisvest.
- In deze kasten zullen de muizen met 4 muizen samen in een standaard kooi worden gehuisvest.
- CO₂ en O₂ zullen worden gecontroleerd
- De muizen in de hypoxie-groep zullen geleidelijk worden blootgesteld aan hypoxie: de eerste 24 uur 12% O₂, vervolgens gedurende de rest van het experiment 10% O₂

Inspanningstolerantie van de muis dmV een looprad

- De muizen worden gedurende 24 uur individueel in een kooi geplaatst waarin zich een looprad bevindt.
- De muizen kunnen op vrijwillige basis rennen in het looprad.
- Gedurende 24 uur zal worden bijgehouden hoe ver de muizen rennen en wat de gemiddelde snelheid is.



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: 043

Uw referentie:

Onze referentie

Maastricht, 19-12-2011

Geachte Onderzoeker,

Uw projectaanvraag: "*Identification of new molecular players and biomarkers in pulmonary arterial hypertension and subsequent right ventricular remodeling*", is op de DEC vergadering van 16 december 2011 besproken.

De DEC heeft een aantal vragen en opmerkingen:

- 1) De DEC verzoekt het privételefoonnummer van de vervangend verantwoordelijke onderzoeker op het voorblad te vermelden.
- 2) Er wordt niet gewerkt met genetisch gemodificeerde dieren. Het GGO nummer en de GGO medewerker zijn dus niet van toepassing en kunnen van het voorblad verwijderd worden.
- 3) De volgorde van nummering van de aanvraag is niet juist. Alternatieven moet 3 zijn.
- 4) De DEC merkt op bij de wetenschappelijke onderbouwing, dat de keuze voor het proefdiermodel wordt onderbouwd met referentie 3. In dat model wordt gebruik gemaakt van ratten, zijn de bevindingen eveneens van toepassing bij muizen? De DEC kan de onderbouwing van model en interventie niet terugvinden in referentie 3.
- 5) De DEC verzoekt de naam van de PI bij punt 6 te verwijderen. Het is niet de bedoeling dat verwezen wordt naar personen in de aanvraag, in verband met de Wet Openbaarheid van Bestuur.
- 6) De DEC verzoekt de uitleesparameter beter te definiëren bij punt 7c.
- 7) Bij punt 7c in de tabel, merkt de DEC op dat the number of animals "20" moet zijn, in plaats van "19" (in verband met afronden). Dit moet in overeenstemming zijn met het voorblad.
- 8) De DEC merkt op dat hypoxie de voedselinname van de muizen kan doen verminderen en stelt voor daar rekening mee te houden voor de overige groepen, door een pair feeding protocol toe te passen in de controlegroepen.
- 9) Bij punt 8 verzoekt de DEC in de 6^e alinea in de laatste zin "one week" before termination of the experiment, toe te voegen.

Conclusie:

Het project wordt aangehouden.

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 2011-160, gelieve dit nummer in verdere correspondentie te vermelden.

De DEC-UM wenst u en uw familie fijne feestdagen en een voorspoedig en vooral gezond 2012!

Hoogachtend,

Voorzitter DEC-UM

Maastricht, 21-12-2011

Geachte DEC,

Hieronder treft u onze reactie aan in navolging op uw brief betreffende onze projectaanvraag (referentienummer 2011-160) getiteld "*Identification of new molecular players and biomarkers in pulmonary arterial hypertension and subsequent right ventricular remodeling*", welke in de DEC vergadering van 16 december besproken is.

1. De DEC verzoekt het privételefoonnummer van de vervangend verantwoordelijke onderzoeker op het voorblad te vermelden.

Voorblad is aangepast

2. Er wordt niet gewerkt met genetisch gemodificeerde dieren. Het GGO nummer en de GGO medewerker zijn dus niet van toepassing en kunnen van het voorblad verwijderd worden.

Voorblad is aangepast

3. De volgorde van nummering van de aanvraag is niet juist. Alternatieven moet 3 zijn.

Nummering is aangepast

4. De DEC merkt op bij de wetenschappelijke onderbouwing, dat de keuze voor het proefdiermodel wordt onderbouwd met referentie 3. In dat model wordt gebruik gemaakt van ratten, zijn de bevindingen eveneens van toepassing bij muizen? De DEC kan de onderbouwing van model en interventie niet terugvinden in referentie 3.

In referentie 3 (Bogaard et al. *Chronic pulmonary artery pressure elevation is insufficient to explain right heart failure*. Circulation 2009;120:1951-1960) wordt inderdaad gebruik gemaakt van een rat- model, waarbij in tegenstelling tot hypoxie, pulmonaal arterie banding gebruikt wordt om rechter ventrikel falen op te wekken. Dit artikel laat echter duidelijk zien dat bij pulmonaal arterie banding, het toevoegen van een koper-arm dieet, het ontstaan van rechter ventrikel falen versterkt.

In een artikel van Stenmark et al. (*Animal models of pulmonary arterial hypertension: the hope for etiological discovery and pharmacological cure*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2009 Dec; 297(6):L1013-32) worden diverse modellen voor pulmonale arteriële hypertensie beschreven, waaronder hypoxie. Hypoxie wordt hier genoemd als een betrouwbare en

reproduceerbare methode om een verhoogde pulmonaaldruk op te wekken bij zowel ratten als muizen.

De toevoeging van een koper-arm dieet is tot op heden alleen beschreven voor pulmonaal arterie banding in ratten (Bogaard et al. *Chronic pulmonary artery pressure elevation is insufficient to explain right heart failure*. Circulation 2009;120:1951-1960; Drake et al. *Molecular signature of a right heart failure program in chronic severe pulmonary hypertension*. Am J Respir Cell Mol Biol 2011 Dec 45(6):1239-47). Onze verwachting is echter dat een vergelijkbaar effect zal optreden in muizen en in combinatie met andere methoden om pulmonale hypertensie op te wekken (waaronder hypoxie), aangezien precies dezelfde pathways geactiveerd worden door het koper-arm dieet. Wij verwachten dat een koper-arm dieet in muizen die blootgesteld zijn aan hypoxie zal leiden tot verminderde formatie van bloedvaten (capillary rarefaction), waardoor er een toename zal zijn van de mate van rechter ventrikel falen.

De reden waarom wij nu voor hypoxie kiezen is dat hypoxie leidt tot vasculaire remodelling zoals dat ook gezien wordt bij patiënten met pulmonale hypertensie. Ons doel is om uiteindelijk ook een muismodel met pulmonaal arterie banding in te zetten, omdat bij deze methode geen vasculaire remodeling optreedt. Data van beide methoden kunnen dan vergeleken worden om te onderzoeken of er verschillen zijn bij het ontstaan van rechter ventrikel falen in de aan- of afwezigheid van pulmonale vasculaire remodeling. Dit diersmodel zal echter in een toekomstige DEC aangevraagd worden.

5. De DEC verzoekt de naam van de PI bij punt 6 te verwijderen. Het is niet de bedoeling dat verwezen wordt naar personen in de aanvraag, in verband met de Wet Openbaarheid van Bestuur.

Aangezien er niet gewerkt wordt met genetisch gemodificeerde dieren is de GGO medewerker niet van toepassing. In dit geval stond op de aanvraag vermeld als GGO medewerker. Dit is nu aangepast (zie punt 2). De naam van de PI bij punt 6 kan dus blijven staan, omdat er nu niet meer wordt verwezen naar personen in de aanvraag.

6. De DEC verzoekt de uitleesparameter beter te definiëren bij punt 7c.

De uitleesparameter die we gebruikt hebben voor de power berekening is rechter ventrikel (RV) falen. Dit is de DEC aanvraag aangepast.

7. Bij punt 7c in de tabel, merkt de DEC op dat the number of animals "20" moet zijn in plaats van "19" (in verband met afronden). Dit moet in overeenstemming zijn met het voorblad.

Het aantal dieren is zowel op het voorblad als in de DEC aanvraag aangepast.

8. De DEC merkt op dat hypoxie de voedselinname van de muizen kan doen verminderen en stelt voor daar rekening mee te houden voor de overige groepen, door een pair feeding protocol toe te passen in de controlegroepen.

Wij zijn het met de DEC eens om een pair feeding protocol toe te passen in de



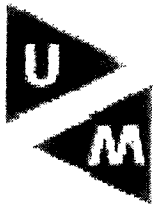
normoxie (controle) groep. De DEC aanvraag is aangepast.

9. Bij punt 8 verzoekt de DEC in de 6^e alinea in de laatste zin "one week" before termination of the experiment, toe te voegen.

Dit is in de DEC aanvraag aangepast.

Wij hopen dat de vragen en opmerkingen van de DEC hiermee voldoende beantwoord zijn.

Hoogachtend,



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: 043

Uw referentie:

Onze referentie :

Maastricht, 01-02-2012

Geachte Onderzoeker,

De herziene versie van uw projectaanvraag: *"Identification of new molecular players and biomarkers in pulmonary arterial hypertension and subsequent right ventricular remodeling"*, is op de DEC vergadering van 27 januari 2012 besproken.

De DEC heeft een aantal vragen en opmerkingen:

- 1) Vraag 6-punt 7c- Er wordt een uitleesparameter genoemd. De DEC wenst een toelichting hoe deze gekwantificeerd/gemeten wordt.
- 2) Punt 6- De DEC verzoekt de naam van de wetenschappelijke beoordelaar (als PI) op het voorblad te vermelden. Het is niet de bedoeling dat verwezen wordt naar personen in de aanvraag, in verband met de Wet Openbaarheid van Bestuur.

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 **2011-160**, gelieve dit nummer in verdere correspondentie te vermelden.

Hoogachtend,

Voorzitter DEC-UM

Maastricht, 01-01-2012

Geachte DEC,

Hieronder treft u onze reactie aan in navolging op uw brief betreffende onze projectaanvraag (referentienummer 2011-160) getiteld: "*Identification of new molecular players and biomarkers in pulmonary arterial hypertension and subsequent right ventricular remodeling*", welke in de DEC vergadering van 27 januari besproken is.

1. Vraag 6- punt 7c- Er wordt een uitleesparameter genoemd. De DEC wenst een toelichting hoe deze gekwantificeerd/gemeten wordt.

De uitleesparameter die in deze DEC genoemd wordt onder punt 7c is rechter ventrikel (RV) falen. De mate van RV falen zal tijdens het experiment op 2 manieren gemeten worden. Ten eerste zal er iedere 2 weken een echocardiogram verricht worden om een indruk te krijgen van de RV functie. Hiervoor zal de TAPSE en de RV diameter gebruikt worden. Daarnaast zullen middels MRI in week 4 en vlak voor beëindiging van het experiment verschillende parameters van RV functie (ejectiefractie, RV volumes in systole en diastole) gemeten worden om de mate van RV falen exact te quantificeren.

2. Punt 6- De DEC verzoekt de naam van de wetenschappelijke beoordelaar (als PI) op het voorblad te vermelden. Het is niet de bedoeling dat verwezen wordt naar personen in de aanvraag, in verband met de Wet op Openbaarheid van Bestuur.

Voorblad en DEC zijn aangepast.

Wij hopen dat de vragen en opmerkingen van de DEC hiermee voldoende beantwoord zijn.

Hoogachtend,

Aan:

()

Ons kenmerk

Doorkiesnummer
043-Maastricht
13-02-2012

Project: Identification of new molecular players and biomarkers in pulmonary arterial hypertension and subsequent right ventricular remodeling.

DEC-UM
Voorzitter DEC-UM

p/a secretariaat DEC-UM

Verantwoordelijk onderzoeker (VO):

Secretariaat DEC-UM
T (043)

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**.

De DEC verzoekt u in de toekomst de aanpassingen ook in het protocol op te nemen.

Postadres
Postbus 616
6200 MD Maastricht

Projectnummer: 2011-160
Diersoort: muis
Aantal dieren: 74
Einddatum: 12-02-2016

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