

71

Begeleidingsformulier aanvraag dierproef DEC- UM

DECNR:2011-164

Versie 2006

Herziene versie

Ontvangen: 09-01-2012

DEC datum goedkeuring#	Type aanvraag 2
10-01-2012	Herz.versie

VROM/GG ONR ³
07-091

LNV/CBDNR ⁴

Hoofdproject			Hersenen en gedrag				
--------------	--	--	--------------------	--	--	--	--

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

Financieel beheerder	
----------------------	--

Budgetnummer	30973518N
--------------	-----------

Titel van het onderzoek:

Validatie fenotype in het 5xFAD Alzheimer muis model

startdatum 02.01.2012 einddatum 9 02.01.2014 Duur van de proef¹⁰: 8 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				Art.9	
4. PI				Art.9	
5. overige uitvoerenden				Art.9	
				Art.9	
				Art.9	

Diergroep	1	2	3	4	5	6	7	8
ctrl/exp/sham	ctrl	ctrl	exp	Exp	ctrl	ctrl	exp	Exp
Diersoort	01	01	01	01	01	01	01	01
Stam	C57BL/6* ⁸ JL	C57BL/6* ⁸ JL	C57BL/6* ⁸ JL	C57BL/6* ⁸ JL	C57BL/6* ⁸ JL	C57BL/6* ⁸ JL	C57BL/6* ⁸ JL	C57BL/6* ⁸ JL
Construct / mutatie ?	Littermate	Littermate	5xFAD	5xFAD	Littermate	Littermate	5xFAD	5xFAD
Herkomst (leverancier) *	01	01	01	01	01	01	01	01
Aantal	5	5	5	5	5	5	5	5
Geslacht	M	F	M	F	M	F	M	F
Dieren immuuncompetent ?	ja	ja	ja	Ja	ja	ja	ja	Ja
Leeftijd/gewicht	6 maanden	6 maanden	6 maanden	6 maanden	6 maanden	6 maanden	6 maanden	6 maanden
Doel van de proef *	32	32	32	32	32	32	32	32
Belang van de proef *	01	01	01	01	01	01	01	01
Toxicologisch onderzoek *	01	01	01	01	01	01	01	01
Bijzondere technieken *	01	01	17	17	01	01	17	17
Anesthesie *	04	04	04	04	01	01	01	01
Pijnbestrijding *	01	01	01	01	01	01	01	01
Mate ongerief *	04	04	04	04	04	04	04	04
Toestand dier einde exp*	01	01	01	01	01	01	01	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: Validatie fenotype in het 5xFAD Alzheimer muis model

1. Doel van de proef.

Het doel van de studie is de ontwikkeling van een anti-inflammatoire immunotherapie die β -amyloid plaques in de ziekte van Alzheimer kan verwijderen zonder bijwerkingen. Hiervoor willen wij gebruik maken van een nieuwe Alzheimer muis (5xFAD) die voor deze doeleinden gebruikt kan worden.

Dit model is in het verleden door andere groepen reeds gebruikt om (immuno)therapie te testen. Hiervoor wordt gebruik gemaakt van histologisch, moleculair biologisch en gedragsonderzoek. De gedragsonderzoeken die in dit onderzoek gebruikt worden zijn eerder al toegepast in andere onderzoeksprojecten binnen de afdeling basale neurowetenschappen.

Het doel van deze proef is een **validatie** om de gebruikte technieken op te zetten

2. Maatschappelijke relevantie en/of wetenschappelijk belang



Alzheimer is de meest voorkomende vorm van dementie, waarvan de prevalentie en de bijhorende socio-economische impact de volgende jaren nog zullen stijgen. De therapieën die tot op heden beschikbaar zijn, zijn enkel symptomatisch of geven ernstige bijwerkingen zoals inflammatoire (ontstekings) reacties in de hersenen. Door gebruik te maken van immunisatie met anti-inflammatoire antilichamen verwachten wij deze bijwerkingen te minimaliseren.

3. Alternatieven

De eigenschappen van deze therapeutische antilichamen werden eerst *in vitro* getest. Zo werd de affiniteit van de antilichamen voor β -amyloid getest en werden de effectorfuncties zoals Fc-receptor activatie en complementactivatie in celculturen onderzocht. Verder werd een *in vitro* bloed-hersenbarrière gebruikt om te onderzoeken of de antilichamen deze in voldoende mate kunnen kruisen. Het spreekt voor zich dat de dierproef niet zal plaatsvinden als de *in vitro* tests aantonen dat het antilichaam niet voldoende biologische activiteit vertoont. Toch is het onmogelijk om alle effecten en nevenwerkingen van deze antilichamen te analyseren met behulp van *in vitro* technieken. Daarom is het noodzakelijk dat deze immunotherapie in proefdieren getest wordt.

4. Ethische afweging

Deze studie draagt bij tot het ontwikkelen van nieuwe behandelingsstrategieën voor de ziekte van Alzheimer. Op dit moment is er nog geen enkel medicijn beschikbaar die de ziekte geneest of remt. De immunotherapie die op dit moment in klinische trial is, blijkt heel wat ongewenste bijwerkingen te geven. De meerwaarde die de uitkomsten van deze dierproef oplevert in de preventie en behandeling van de ziekte van Alzheimer, rechtvaardigt daarom volgens ons het gebruik van de voorgestelde experimenten en het voorgestelde aantal dieren.

In dit experiment zal het gebruikte diermodel en de testen gevalideerd worden. Dankzij dit experiment kunnen we op die manier ervoor zorgen dat er voor het uiteindelijke experiment een minimum aantal proefdieren gebruikt wordt.

2 Wetenschap

5. Wetenschappelijke onderbouwing

β -amyloid afzetting in de hersenen heeft een centrale rol in de pathologie van de ziekte van Alzheimer. Eerdere studies in diersmodellen en klinische trials hebben duidelijk aangetoond dat immunisatie tegen β -amyloid de hoeveelheid plaques en de neuropathologie in de ziekte van Alzheimer kunnen verlagen. Wanneer patiënten geïmmuniseerd werden met β -amyloid (actieve immunisatie), leidde dit tot een vermindering van het aantal plaques. In 6% van de patiënten leidde de immunisatie tot T-cel gemedieerde meningoencephalitis (ontsteking van hersenen en hersenvliezen). Passieve immunisatie met humane anti β -amyloid antilichamen is een veiligere therapeutische benadering omdat het niet leidt tot T-cel activatie. Toch kunnen ook antilichamen een inflammatoire respons induceren. Om deze reden moeten de effectorfuncties van therapeutische antilichamen zorgvuldig gecontroleerd worden. Het therapeutische effect en de eventuele bijwerkingen van zowel pro- als anti-inflammatoire antilichamen zullen worden getest in deze studie.

Antilichamen met verschillende isotypes verschillen in hun effectorfuncties (complementactivatie, celrecrutering en antigene modulatie). Zo verschillen het anti-inflammatoire muis IgG1 en het proinflammatoire muis IgG2a in hun mogelijkheid om het complementsysteem te activeren. Dus het vergelijken van het therapeutische effect en de nevenwerkingen van beide isotypes, kunnen ons meer inzicht verschaffen in de rol van verschillende effectorfuncties in het ruimen van amyloidplaques. Op deze manier is het mogelijk om een plaque-ruimend antilichaam te ontwikkelen dat minimale nevenwerkingen vertoont.

Dit project is ontwikkeld om de volgende vragen te beantwoorden:

- 1) Welke zijn de minimale effectorfuncties die een antilichaam moet bezitten om plaques te kunnen verwijderen?
- 2) Welke effectorfuncties leiden tot weefselschade?
- 3) Welke effectorfuncties leiden tot een verbetering van cognitieve functies?
- 4) Kan immunotherapie tegen β -amyloid zowel preventief als therapeutisch toegepast worden?

Onze hypothese is dat anti-inflammatoire antilichamen in staat zijn om plaques te verwijderen zonder nevenwerkingen.

6. Wetenschappelijke beoordeling

Deze studie ontving subsidies van de
adviesraad van de

en goedgekeurd door de medische

3 Proefdier

7. Proefdier keuze

7a. Soort, stam / herkomst / eindbestemming

Voor deze studie zullen transgene 5xFAD muizen en hun non-transgene littermates gebruikt worden. Deze muizen vertonen overexpressie van mutant humaan amyloid precursor proteïne (APP) (K670N, M671L, I716V en V717I) en mutant humaan preseniline-1 (M146L en L286V) wat resulteert in meer 'cleaving' van APP tot β -amyloid en hierdoor meer β -amyloid aggregatie. In deze muizen start de intraneuronale β -amyloid accumulatie al vanaf de leeftijd van 6 weken. Wanneer de muizen 8 weken oud zijn, is er reeds amyloid afzetting en gliosis (littekenvorming) aanwezig in de hersenen. Bovendien hebben de muizen geheugenverlies (getest m.b.v. Y-maze test). Dus 5xFAD transgene muizen vertonen relatief snel de belangrijkste kenmerken van de ziekte van Alzheimer en zijn daardoor geschikte modellen om neurodegeneratie en plaquevorming als gevolg van β -amyloidaccumulatie te onderzoeken. Door dit muismodel te gebruiken, kunnen we de duur dat een dier in experiment is, verkorten. De 5xFAD transgene muizen vertonen al op zeer jonge leeftijd de pathologische kenmerken van de ziekte van Alzheimer waardoor de mogelijke effecten van immunotherapie reeds na enkele weken zichtbaar zijn. Bij andere modellen is dit effect pas veel later zichtbaar (Oakley, Cole et al. 2006).

De muizen worden gekweekt als heterozygoten en zijn commercieel verkrijgbaar bij Jackson Laboratories (B6SJL-Tg(APPswFLon,PSEN1*M146L*L286V)6799Vas/J). De muizen vallen onder GGO vergunning 07-091. Na de experimenten zullen de muizen worden geëuthanaseerd en de hersenen zullen worden verwijderd voor verdere analyse.

7b. Sexe

In het experiment zullen zowel mannen als vrouwen gebruikt worden. Er zal gevalideerd worden of er een sexe verschil aanwezig is (de literatuur is hier tegenstrijdig over: (Tohda, Nakada et al.) en (Jawhar, Trawicka et al.))

7c. Aantallen

Er zijn twee verschillende groepen en 2 verschillende sexes:

- 5xFAD en control littermates
- Mannelijk en vrouwelijk

Als effectmaat worden de volgende maten gebruikt:

- Open Field test: afgelegde afstand (geen verschillen in literatuur gerapporteerd)
- Alternating Y-maze: effect size: 15% en standard deviatie van 7% (Oakley, Cole et al. 2006)
- Elevated Zero Maze: niet eerder gebruikt in dit muismodel
- Contextual Fear Conditioning test: het percentage freezing behavior (27% effect size en std van 20% (Ohno 2009))
- PET Imaging: hoeveelheid plaque load (geen data bekend in dit muismodel)

Berekeningen a.d.h.v. L. Sachs: $n = 2(z_{\alpha/2} - z_{\pi})^2 * (\sigma/\delta)^2$

Hierin $2(z_{\alpha/2} - z_{\pi})^2 = F$. Voor een onbetrouwbaarheid van de toets $\alpha = 0,05$ en een onderscheidingsvermogen (π) 80% is $F_{0,80} = 15,7$

Voor een onbetrouwbaarheid van de toets $\alpha = 0,05$ en een onderscheidingsvermogen van 80% is $F_{0,80} = 15,7$.

Uit de literatuur blijkt bij dit muismodel en deze taken een effect 27%. De standaard deviatie in deze experimenten ligt ook rond de 20% (Ohno 2009).

$$n = F * (0.20/0.27)^2$$

$$\frac{4}{n} = 8.6$$

Met een uitvalspercentage van 10% komt dit neer op

$$(a-0.1a) = 8.6$$

$a=9.4 \rightarrow 10$ muizen per groep

Mannelijk 5xFAD	10
Mannelijk WT	10
Vrouwelijk 5XFAD	10
Vrouwelijk WT	10
Totaal aantal dieren	40

6 Dierproef

8. Experiment

Tijdens dit experiment zullen de verschillende gedragstesten gevalideerd worden voor dit diemodel in ons lab. Omwille van het feit dat gedragstesten kunnen verschillen tussen labs en ons lab nog geen ervaring heeft met dit specifieke diemodel, zullen deze testen uitgevoerd worden om te kijken of er een phenotype is met deze dieren en de gebruikte tests. Later kan dit diemodel dan gebruikt worden om de uiteindelijke hypothese te beantwoorden.

Op de leeftijd van 6 maanden zullen de dieren getest worden met een batterij van cognitieve testen. Hiervoor zullen we gebruik maken van de volgende testen:

- Open Field Test (om te corrigeren voor motorische stoornissen)
- Alternating Y-maze (verkenningsgedrag en korte termijn geheugen)
- Contextual Fear Conditioning (associatief geheugen en anxiety)
- Elevated Zero Maze (anxiety)



1w	24w	26w
	Fear conditioning	Fear conditioning
	Open Field	Y maze
	Zero Maze	

De onderzoeker die de test uitvoert zal geblindeerd worden voor het genotype.

Na het uitvoeren van de gedragstesten zullen 3 muizen van iedere groep gebruikt worden voor het imaging van plaque load met Positron Emission Tomography (PET). Dit zal gebeuren d.m.v. injectie van Pittsburgh Compound C in de staartvene onder anesthesie met isofluraan (Maeda, Ji et al. 2007).

Wanneer de muizen 6 maanden oud zijn, worden de muizen onderverdeeld in twee groepen. Indien er geen fenotype op deze leeftijd gevonden wordt, zullen de muizen nog een keer getest worden op 8 maanden. De eerste groep muizen zal geëuthanaseerd worden door intracardiale perfusie. De hersenen van deze muizen zullen gebruikt worden voor immunohistochemische analyses. De tweede groep muizen zal opgeofferd worden door CO₂ inhalatie. De hersenen van deze muizen zullen verdeeld worden in 2 hersenhelften. Een hersenhelft zal gebruikt worden om met behulp van β -amyloid specifieke ELISAs de hoeveelheid β -amyloid aan te tonen. De andere hersenhelft zal onmiddellijk na de euthanasie in artificieel cerebrospinaal vocht geplaatst worden. Deze hersenen zullen gebruikt worden om het effect van de behandeling op de synaptische plasticiteit te meten.

9. Experimentele condities

9a. Anesthesie

Pentobarbital (100 mg/kg i.p.) zal worden toegedient na afloop van de gedragsexperimenten.

9b. Pijnbestrijding

Er is geen reden voor pijnbestrijding.

9c. Euthanasie en Humane eindpunten

Euthanasie: De helft van de dieren wordt geopgeofferd dmv van perfusie onder anesthesie. De andere helft van de dieren wordt opgeofferd dmv van CO₂/O₂ (6:4) inhalatie met een humidifier

zonder anesthesie. Als de dieren het bewustzijn hebben verloren, wordt de concentratie CO₂ naar 100% gebracht voor min. 10 minuten.

Humane eindpunten: Indien tijdens de proef een dier ernstig ziek wordt of significant lijdt agv van het experiment of door een andere oorzaak (infectie, tumor etc.), dan zal het dier euthanasie ondergaan middels decapitatie na sedatie met pentobarbital injection 100mg/kg (i.p.). Humane eindpunten in deze zijn een sterk uitgedroogde en/of sterk apatische indruk en/of afname in lichaamsgewicht met meer dan 15% gewichtsverlies binnen 2-3 dagen. Indien er twijfel bestaat over de ernst van het lijden of de mogelijkheid van de behandeling van de oorzaak, dan zal de CPV-dierenarts (art. 14) geraadpleegd worden.

Zorg

10a. Ongerief

Een overzicht van de verschillende groepen, taken, tijden en ongeriefscores is terug te vinden in de onderstaande tabel:

Oorzaak	Frequentie	Duur	WT	5xFAD
A: genotype	1x	doorlopend	00	02
B: Open Field Test	1x	1h	03	03
C: Zero Maze	1x	5'	03	03
D: Fear Contioning	1x en 2x	7.5' en 3'	04	04
E: Y-maze	1x		03	03
F: IP injectie	1x	1'	02	02
G: PET	1x	60'	01	01

A: Het genotype kan voor mild tot gemiddeld ongerief zorgen (02).

B, C, E: het onontkoombare open veld geeft aanleiding tot matige stress (03).

D: de Fear Conditioning taak zorgt voor gematigd tot ernstig ongerief (04) aangezien de dieren angst ervaren en een milde schok krijgen.

F: **matig/geringe stress/pijn (02). Elk dier zal een éénmalige injectie krijgen van 100 mg/kg Pentobarbital voorafgaand aan de perfusie**

G: Muizen worden anesthesie met isofluraan gebracht wat voor mild ongerief zorgt.

10b. Welzijnsevaluatie

Er zal een welzijnsevaluatie worden bijgehouden in een dagboek aangezien eerdere data niet beschikbaar is.

11. Verzorging en huisvesting

Standaard huisvesting in groep, water en voer ad lib met kooiverrijking en verzorging

12. Deskundigheid

Alle personen hebben art. 9 gehaald. Binnen de _____ is ruime ervaring met de gedragstesten aanwezig en de uitvoerders zullen worden bijgestaan door personen met ervaring met deze gedragstesten (* _____). Eerdere DEC's met deze gedragstesten zijn o.a. 2010-148

13. Standard Operation Procedures (SOP)

Aard, frequentie en plaats van toediening, dosering in gewichtshoeveelheden, enz.

Van iedere operatie of techniek dient een SOP als bijlage toegevoegd te worden, waarin exact de gehele procedure beschreven dient te worden: wijze van anesthesie incl. voorbereiding, doseringen, hechtmateriaal, wijze van hechten etc.

Maak zo mogelijk integraal gebruik van geregistreerde SOP's (www.cpv.unimaas.nl) en volsta met verwijzing hiernaar.

Het verdient aanbeveling gebruik te maken van de Code of Practice (van het CPV) en afwijkingen hierop expliciet te vermelden.

Relevante literatuur

Jawhar, S., A. Trawicka, et al. "Motor deficits, neuron loss, and reduced anxiety coinciding with axonal degeneration and intraneuronal A [beta] aggregation in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease." *Neurobiology of Aging*.

Maeda, J., B. Ji, et al. (2007). "Longitudinal, quantitative assessment of amyloid, neuroinflammation, and anti-amyloid treatment in a living mouse model of Alzheimer's disease enabled by positron emission tomography." The Journal of Neuroscience 27(41): 10957.

Oakley, H., S. Cole, et al. (2006). "Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation." Journal of Neuroscience 26(40): 10129.

Ohno, M. (2009). "Failures to reconsolidate memory in a mouse model of Alzheimer's disease." Neurobiology of learning and memory 92(3): 455-459.

Sanders, M. J., B. J. Wiltgen, et al. (2003). "The place of the hippocampus in fear conditioning." European journal of pharmacology 463(1-3): 217-223.

Tohda, C., R. Nakada, et al. "Kamikihi-to (KKT) rescues axonal and synaptic degeneration associated with memory impairment in a mouse model of Alzheimer's disease, 5XFAD." International Journal of Neuroscience(0): 1-21.

Appendix: SOPs

Elevated Zero maze (EZM)

The zero-maze, described in Shepherd et al. (1994), consists of a circular alley (diameter of 25 cm). The path has a width of 5 cm. The maze is divided in four parts, i.e., two opposite open parts and two opposite closed parts. The sidewalls have a height of 25 cm. The open parts have borders with a height of 5 mm. The parts of the maze which the animals could have contact with, are made from a black plastic material that was transparent for infrared light. The maze is elevated 20 cm above the floor.

The light intensity in the open arms is ± 2 lux., in the closed arms ± 1 lux. The maze is placed under a metal frame with black curtains on every side.

For the test, the mouse is placed into one of the open parts facing the closed part of the apparatus for five minutes. After the test the mouse is removed from the apparatus and the maze was cleaned with 10 % ethanol and dried thoroughly. The route followed by the mouse is tracked by a video camera connected to special equipment (Ethovision Pro, Noldus, The Netherlands). The software is capable of measuring the number of visits, the distance travelled and the time spend in each part of the maze.

Open field test (OF)

An open field is used to assess anxiety/locomotor activity changes (Prickaerts et al., 1996).

The test is conducted in a square Plexiglas base (50x50cm) with a gray floor and 25 cm high black Plexiglas walls and it is divided into 4 equal arenas (25x25cm each) separated by 25 cm high black Plexiglas walls. Four mice are placed in the center of each open field and able to freely move around for 20 min. The illumination of the room is reduced to 20lx on the floor of the apparatus. The total distance moved is scored automatically via a video camera connected to a video tracking system (Ethovision Pro, Noldus, The Netherlands).

Y-maze

The spontaneous alternation in the Y-maze was performed as previously described (Holcomb et al. 1998). The symmetrical Y-maze made of acrylic consists of three arms, with all arms

being apart from the others at a 120 degree angle. Each arm is 40 cm long, 17 cm high, 4 cm wide at the bottom and 13 cm wide at the top. Each mouse was placed in the centre of the Y-maze and was free to explore the arena for 6 minutes. The number of entries was counted per mouse; one entry meaning that both hind paws of the animal must be placed completely inside the arm. A mouse would be making a triad, when it visited all three arms consecutively. The measure for working memory would be the percentage of alternations that the mouse makes, being the number of triads divided by the maximum possible alternations (the total number entries minus 2) x 100.

The same maze can also be used for spatial memory. During a first trial one of three arms will be blocked and the mouse is able to explore the two open arms for 5 minutes. After a certain interval (e.g. 1 hour) the mouse will be re-introduced into the arena, but the blockade will be lifted, allowing access to the formerly closed arm. If the mouse spends more time in the novel arm compared to the old arms, it will have intact spatial memory.

Fear Conditioning (Sanders, Wiltgen et al. 2003)

Dag 1: Conditioning

De muis wordt in een transport bak uit de stal naar de experimenteer ruimte gebracht. Voor elke sessie wordt de Skinner box schoongemaakt met 70% ethanol om geuren van vorige dieren te maskeren. De muis wordt in de Skinner box geplaatst waarna het volgende programma wordt afgelopen.

t=120 sec: 70 dB tone (conditioned stimulus) voor 20 sec

t=138 sec: foot shock 0.75 mA voor 2 sec

t=140 sec: 58 sec inter-trial interval

t=198 sec: 70 dB tone (conditioned stimulus) voor 20 sec

t=216 sec: foot shock 0.75 mA voor 2 sec

t=218 sec: 58 sec inter-trial interval

t=276 sec: 70 dB tone (conditioned stimulus) voor 20 sec

t=294 sec: foot shock 0.75 mA voor 2 sec

t=296 sec: 58 sec inter-trial interval

t=354 sec: 70 dB tone (conditioned stimulus) voor 20 sec

t=372 sec: foot shock 0.75 mA voor 2 sec

t=374 sec: 58 sec inter-trial interval

t=432 sec: muis terug in transport bak, retour naar stal

Gedurende deze hele 7,5 min wordt "freezing" gedrag gescored in 2 sec. intervallen, de eerste 120 seconden dienen als baseline.

Dag 2 en dag 14:

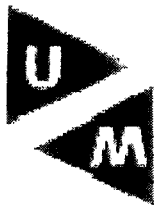
Context Test:

De muis wordt op dezelfde wijze naar de testkamer gebracht, waarna ze gedurende 3 minuten geobserveerd worden voor freezing. Het freezezen wordt geanalyseerd met Freezeframe software. Er wordt geen toon of schok gepresenteerd.

Perfusion

The animal will receive a pentobarbital injection 100mg/kg (i.p.). When the animal is under complete anesthesia (as checked for reflexes by pinching a paw), the abdominal wall and peritoneum is cut open using scissors. Secondly the diaphragm and ribs are cut open to reveal the heart and lungs. A needle connected to a pumping system is then placed in the apex of the heart and the pump is turned on to pump buffer (Tyrode) through the system. The right bosom is cut open to allow fluid to exit the vascular system.

After a 1-minute rinse with buffer, Somogyi fixation fluid (4% paraformaldehyde, 15% picric acid, 0.05% glutaraldehyde in 0.1M phosphate buffer) is pumped through the system to ensure fixation of the tissue. After 12 minutes Somogyi fixation, the animal is decapitated and its brain is removed carefully from the skull for further processing.



University Maastricht

Faculty of Health, Medicine

and Life Sciences

Dierexperimenten Commissie

DEC

Aan:

¹, 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: "*Pilot experiment om fenotype in het 5xFAD Alzheimer muis model te valideren*", is op de DEC vergadering van 16 december 2011 besproken.

De DEC heeft een aantal vragen en opmerkingen:

- 1) De DEC verzoekt het hoofd en deelproject op het voorblad aan te geven.
- 2) De duur van de proef op het voorblad is niet juist (dit is de langste periode binnen één project dat één dier in proef is). De DEC verzoekt dit aan te passen (8 maanden).
- 3) De DEC verzoekt in de gehele aanvraag de term "Pilotstudie" te verwijderen, Het betreft hier geen pilotstudie.
- 4) De DEC verzoekt de naam van de PI bij punt 6 te verwijderen en 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. Tevens de laatste zin bij punt 6 te verwijderen.
- 5) Bij punt 7c in de tabel, moet de 4^e regel "mannelijk WT", aangepast worden in "vrouwelijk WT".
- 6) Bij punt 9c dient CO₂ juist aangegeven te worden.
- 7) Bij punt 10a verzoekt de DEC de zin "voorafgaand aan de stereotactische operatie" te verwijderen.

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 2011-164, 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

Betreffende wijzigingen DEC 2011-164

Geachte DEC,

Hierbij de beantwoording van de vragen en opmerkingen:

1. Het hoofd- en deelproject is nu op het voorblad aangegeven.
2. De duur van het project op het voorblad is aangepast naar 8 maanden.
3. De term pilotstudie is in zijn geheel uit de aanvraag verwijderd.
4. De naam van de PI is bij punt 6 verwijderd en ook de laatste zin bij punt 6 is aangepast.
5. In de tabel bij punt 7c is de regel aangepast in vrouwelijk WT.
6. Bij punt 9c is de opoffering met behulp van CO2 correct aangepast.
7. Bij punt 10a is de betreffende zin verwijderd.

De wijzigingen zijn in grijs gemarkeerd in de aanvraag en op het voorblad. Hopelijk u hierbij voldoende geïnformeerd te hebben.

Met vriendelijke groet,

Aan:

Ons kenmerk

Doorkiesnummer
043-

Maastricht
10-01-2012

Project: Validatie fenotype in het 5xFAD Alzheimer muis model.

DEC-UM
Voorzitter DEC-UM

Verantwoordelijk onderzoeker (VO):

p/a secretariaat DEC-UM

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

Secretariaat DEC-UM
T (043)

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

Bezoekadres

Projectnummer: 2011-164
Diersoort: muis
Aantal dieren: 40
Einddatum: 10-01-2016

Postadres
Postbus 616
6200 MD Maastricht

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

