

Begeleidingsformulier aanvraag dierproef DEC- UM Versie 2006				DECNR: 2011-093	
Herziene versie				Ontvangen: 05-07-11	
DEC datum goedkeuring#		Type aanvraag ₂		VROM/GGONR ³	
15-07-2011		Nieuw		LNV/CB DNR ⁴	
Hoofdproject		CARIM		Ig08071	
Deelproject		3.			
Financieel beheerder				Budgetnummer 30983109N	
Titel van het onderzoek:					

De rol van adventitiële lymfe capillairen in atherosclerose.

startdatum **01-09-2011** einddatum **01-09-2015** *Duur van de proef¹⁰: 10 weken*

1. Verantwoordelijk onderzoeker (VO)		1	Art.9
2. Vervanger VO (VVO)			Art.9
3. Verantwoordelijk medewerker (VM) GGO ⁷			Art.9
4. overige uitvoerenden			Art.12 Art.9 Art.9

Diergroep	1 Interventie: VEGF-C/ anti-VEGF-C	2 2-foton microscopie
ctrl/exp/sham	Exp	Ctrl
Diersoort	01	01
Stam	C57Bl6	C57Bl6
Construct / mutatie ?	ApoE-/-	ApoE-/-
Herkomst (leverancier) *	01	01
Aantal	96	6
Geslacht	M	M
Dieren immuuncompetent	Ja	Ja
Leeftijd/gewicht	10-12 wk	10-12 wk
Doel van de proef *	31	31
Belang van de proef *	01	01
Toxicologisch onderzoek *	01	01
Bijzondere technieken *	01	01
Anesthesie *	04	04
Pijnbestrijding *	04	04
Mate ongerief *	04	03
Toestand dier einde exp*	01	01

2 Verantwoording

Aanvraag dierproef DEC-UM

Titel: De rol van adventitiële lymfe capillairen in atherosclerose.

1. Doel van de proef.

Hart- en vaatziekten vormen nog steeds de grootste doodsoorzaak binnen de Westerse wereld. Atherosclerose behoort tot deze groep en kan aanleiding geven tot klinische complicaties zoals een myocard infarct, een herseninfarct en perifere vaatlijden. Ondanks toediening van cholesterol en bloeddruk verlagende medicatie, blijft atherosclerose nog steeds de grootste doodsoorzaak. In de laatste jaren is via onderzoek duidelijk geworden dat atherosclerose een chronisch inflammatoire ziekte is waarbij acuut plaque destabilisatie kan optreden wat dan weer aanleiding geeft tot de eerder vermelde klinische complicaties. Het is wel gekend dat inflammatoire cellen de plaque binnen migreren via de lumenale zijde en een chemokine gradiënt opbouwen wat migratie van nog meer inflammatoire cellen naar de plaque induceert. Bij het bestuderen van chemokine expressie in de vaatwand valt op dat chemokines niet enkel in de plaque zelf tot expressie komen maar ook in de adventitia, wat de buitenste laag van de vaatwand vormt. De adventitia omringt de plaque en media en is opgebouwd uit bindweefsel. De adventitia is rijk aan inflammatoire cellen alsook bloedvaten (vasa vasorum) en lymfevaten. Gedacht wordt dat de adventitia als een soort van lymfeweefsel functioneert en dat het in nauw contact staat met omliggende lymfeklieren en -vaten. Wij zijn geïnteresseerd in de functie van die lymfevaten (= lymfecapillairen) en hun mogelijke rol in atherosclerose. In een vorige studie (zie DEC 2010-098) hebben we aangetoond dat verwijdering van de drainerende lymfeknoop en het efferente lymfevat, waardoor we het contact tussen de adventitia en het omliggende lymfeweefsel verbreken, leidt tot een verergering van atherosclerose. In deze studie zouden we willen nagaan wat nu precies de functie is van die lymfecapillairen. Hiervoor willen we een nieuwe interventiestudie doen waarbij we de aanmaak van nieuwe lymfecapillairen in de ene groep muizen blokkeren en in een andere groep stimuleren en kijken naar het effect op atherosclerose. Om na te gaan of de lymfecapillairen zorgen voor aan- of afvoer van cellen naar de adventitia en dus ook de plaque, zouden we de lymfecapillairen in de adventitia willen in beeld brengen via 2-foton microscopie om zo transport van cellen te bestuderen.

2. Maatschappelijke relevantie en/of wetenschappelijk belang



Vandaag de dag sterven nog steeds het merendeel van atherosclerose patiënten ten gevolge van klinische complicaties die optreden ondanks het feit dat deze patiënten behandeld worden met cholesterol en bloeddruk verlagende medicatie. Om patiënten die lijden aan atherosclerose een adequate behandeling te kunnen aanbieden, dient nog veel onderzoek gedaan te worden om de inflammatoire processen die zich afspelen binnen atherosclerose beter te begrijpen. Tot nu toe werd weinig aandacht besteed aan de rol die de adventitia en zijn lymfecapillairen zouden kunnen spelen in atherosclerose. Maar er zijn aanwijzingen dat de adventitia een prominente rol zou spelen in dit ziekteproces. We verwachten dat deze studie dan ook voor het eerst duidelijkheid zal scheppen in de rol van de adventitia en lymfecapillairen in de ontwikkeling en progressie van atherosclerose.

3. Alternatieven

Voor deze studie is het in beeld brengen van de lymfecapillairen in de adventitia heel belangrijk. We willen namelijk te weten komen of er werkelijk transport plaatsvindt van cellen in en/of uit de adventitia via deze capillairen. De interventiestudie is ook heel belangrijk omdat we hier te weten komen wat het echte effect is van lymfecapillairen in atherosclerose door de aanmaak van lymfevaten te stimuleren en ook te blokkeren. Deze 2 vragen kunnen we echter niet beantwoorden door middel van in vitro technieken. Net omdat we niet naar cel ontwikkeling of differentiatie gaan kijken maar echt naar

lymfecapillairen in de adventitia en hun functie. Dit is iets dat we in vitro niet kunnen nabootsen. Vandaar dat dier experimenten een belangrijk onderdeel vormen bij onze vraagstelling.

4. Ethische afweging

Hart- en vaatziekten en de onderliggende oorzaak van atherosclerose vormen de hoofdoorzaak van mortaliteit en morbiditeit binnen de Westerse wereld. Cardiovasculaire aandoeningen vormen daarom niet alleen een bron voor grote uitgaven binnen de gezondheidszorg, maar vormen ook een verlies voor de economie en het welzijn. Daarom dat het verantwoord is verder onderzoek te doen om bij te dragen tot een verbetering van de situatie. In deze studie gaan we de rol van de adventitia en zijn lymfecapillairen in atherosclerose bestuderen. Om dit te onderzoeken zullen we gebruik maken van een muismodel dat zeer representatief is voor de humane situatie.

Wetenschap

5. Wetenschappelijke onderbouwing

Atherosclerose is een chronisch inflammatoire ziekte die gekenmerkt wordt door opstapeling van vetten en inflammatoire cellen in de vaatwand. Atherosclerose wordt klinisch manifesteerbaar in een laat stadium, wanneer initiële plaques zich ontwikkeld hebben tot complexe fibroatheromateuze laesies met een verdunde fibreuze kap en een grote lipid core wat ertoe leidt dat deze laesies erg gevoelig worden voor meer destabilisatie met als gevolg ruptuur van de plaque en thrombus vorming. Zowel de ontwikkeling alsook de verdere progressie van atherosclerotische laesies wordt bestuurd door de rekrutering van grote hoeveelheden inflammatoire cellen naar de plaque. De adventitia en de omliggende lymfeklieren zouden een cruciale rol kunnen spelen in de rekrutering van deze cellen naar de plaque. In een vorige studie hebben we aangetoond dat verwijdering van de omliggende lymfeklieren leidt tot een verergering van plaque ontwikkeling. In deze studie zouden we willen nagaan wat de rol is van de lymfecapillairen in de adventitia, waarvan we vermoeden dat die in direct contact staan met deze lymfeklieren. We willen nagaan of ze zorgen voor afvoer van pro-inflammatoire cellen en/of aanvoer van regulerende (lees anti-inflammatoire) cellen. Hiervoor gaan we gebruik maken van 2-foton microscopie om de lymfecapillairen in beeld te brengen. Verder willen we ook een interventiestudie doen waarbij we de aanmaak van nieuwe lymfecapillairen in de adventitia willen blokkeren of stimuleren. De reden waarom we dit willen doen is omdat we hebben aangetoond dat het aantal lymfecapillairen in de adventitia toeneemt naarmate de ziekte vordert, wat suggereert dat er een positief verband is tussen de ontwikkeling van atherosclerose en het aantal lymfecapillairen in de adventitia. Om de aanmaak van lymfecapillairen te stimuleren willen we een eiwit, VEGF-C, lokaal ter hoogte van de a. carotis toedienen via een pluronic gel na collar plaatsing. Om de aanmaak van lymfecapillairen te blokkeren willen we gebruik maken van anti-VEGF-C, een remmer voor lymfe angiogenese. Ook dit willen we lokaal toedienen via een gel.

6. Wetenschappelijke beoordeling

Dit DEC protocol is gelezen en goedgekeurd door principal investigator (PI)

Proefdier

7. Proefdier keuze

7a. Soort, stam / herkomst / eindbestemming

Voor al onze proeven gaan we gebruik maken van ApoE^{-/-} muizen omdat we dezelfde stam in de vorige studie hebben gebruikt (zie DEC 2010-098) en omdat deze muizen bij cholesterol rijk dieet gelijkaardige atherosclerotische laesies ontwikkelen als de mens. De dieren zullen worden voorzien uit de fok

bij het CPV of zullen besteld worden bij Jackson's Laboratories, afhankelijk van de beschikbaarheid aan muizen op dat moment bij het CPV.

7b. Sexe

De ontwikkeling van atherosclerose varieert tussen beide geslachten, vandaar dat we verkiezen om slechts met één sexe te werken. Omdat we in onze vorige studie gebruik hebben gemaakt van ApoE^{-/-} mannen, zouden we voor deze studie ook ApoE^{-/-} mannen willen gebruiken. Op die manier beperken we de variatie tussen beide studies.

7c. Aantallen

We gaan 2 studies uitvoeren: 1) interventiestudie waarbij we lymfe angiogenese gaan stimuleren d.m.v. toediening van VEGF-C of afremmen via anti-VEGF-C. 2) Verder gaan we de lymfecapillairen proberen in beeld te brengen en gaan we onderzoeken of er transport van cellen plaatsvindt tussen de omliggende lymfeklieren en de adventitia via de lymfecapillairen. Hiervoor gaan we gelabelde cellen injecteren in de lymfeklieren en nagaan of ze in de adventitia terechtkomen via die capillairen.

1. Interventiestudie: VEGF-C (stimulatie lymfe angiogenese) en anti-VEGF-C (remming lymfe angiogenese)

Voor deze studie hebben we 96 ApoE^{-/-} muizen nodig. Deze 96 muizen worden over 2 groepen verdeeld: een vroege groep (n=48) waarbij we naar de effecten van VEGF-C en anti-VEGF-C op plaque ontwikkeling kijken, en een late groep (n=48) waarbij we naar effecten op plaque progressie kijken. In beide groepen ontvangt een derde van de muizen (n=16) VEGF-C behandeling, een derde anti-VEGF-C (n=16) en een derde (n=16) geen behandeling (= controle). In deze studie gaan we gebruik maken van het collar model om lokaal in de a. carotis atherosclerose te induceren. Om VEGF-C en anti-VEGF-C lokaal toe te dienen gaan we gebruik maken van een pluronic gel waarin we VEGF-C en anti-VEGF-C toedienen, ofwel via een adenovirus, ofwel via een fusie-eiwit.

	vroege plaques	late plaques	totaal
controle	16	16	32
VEGF-C	16	16	32
Anti-VEGF-C	16	16	32
Totaal	48	48	96

2. 2-foton microscopie om de lymfecapillairen in beeld te brengen en migratie van cellen naar de adventitia te bestuderen

In het eerste deel van deze studie gaan we proberen de lymfecapillairen in beeld te brengen m.b.v. 2-foton microscopie. Voor het optimaliseren van het in beeld brengen van lymfecapillairen schatten we 3 ApoE^{-/-} muizen nodig te hebben, aangezien we zowel links als rechts kunnen proberen, wat 2 pogingen per muis maakt. Om migratie van cellen van de nabijgelegen lymfeklieren naar de adventitia via de lymfecapillairen te bestuderen, hebben we ook 3 ApoE^{-/-} muizen nodig.

Powerberekening:**1. Interventiestudie: stimulatie en remming van lymfe angiogenese in de adventitia d.m.v. VEGF-C en anti-VEGF-C, respectievelijk**

Uit eerdere experimenten binnen onze groep waarbij collars werden geplaatst, is het gemiddelde $\sigma = 28$ en δ is 30 (plaque grootte als parameter). Volgens de formule van Sachs ($n = 2(z_{\alpha/2} - z_{\pi})^2 * (\sigma/\delta)^2$ met (80% betrouwbaarheidsinterval): $F 0.8 = 15.7$ $n = 15.7 * (\sigma/\delta)^2$ hebben we $n = 15.7 * (28/30)^2$ muizen nodig, wat overeenkomt met een totaal aantal muizen van (n) 13.7. Rekening houdende met een uitval van 10%, wat overeenkomt met uitval in eerdere studies binnen onze groep waarbij collars werden geplaatst, hebben we $n = 16$ muizen nodig per groep.

2. In beeld brengen van lymfecapillairen en cel migratie doorheen de capillairen in de adventitia

Voor deze studie schatten we voldoende te hebben met 3 muizen voor het oefenen en optimaliseren van het in beeld brengen van de lymfecapillairen. Eens dat gelukt is gaan we proberen cel migratie doorheen die lymfecapillairen in beeld te brengen. Ook hier schatten we met 3 muizen voldoende te hebben omdat we geen uitval verwachten.

Overzicht van de dieren:

Experiment	Interventie	Genotype	N	Oorsprong
Interventie met VEGF-C (diergroep 1)	controle	ApoE-/-	32	fok (CPV) / Jackson
	VEGF-C	ApoE-/-	32	fok (CPV) / Jackson
	Anti-VEGF-C	ApoE-/-	32	fok (CPV) / Jackson
2-foton microscopie (diergroep 2)	In beeld brengen van de lymfecapillairen	ApoE-/-	3	fok (CPV) / Jackson
	Cel migratie doorheen de lymfecapillairen	ApoE-/-	3	fok (CPV) / Jackson
Totaal			102	

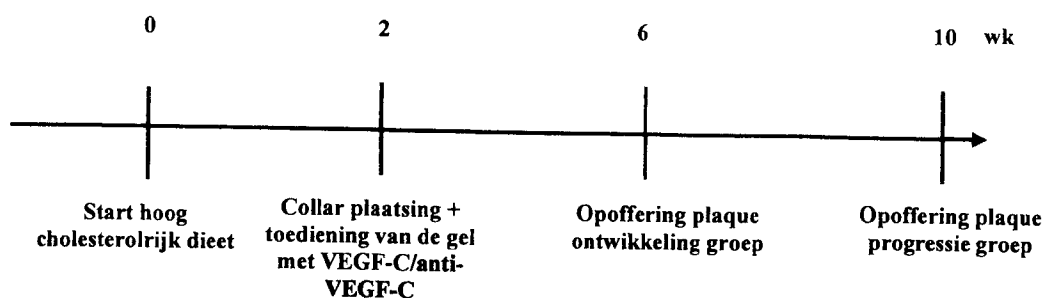
Dierproef**8. Experiment****1. In vivo experimenten:**

We gaan een grote interventiestudie doen om de rol van de lymfecapillairen in de adventitia te bestuderen in relatie tot atherosclerose ontwikkeling en progressie. Voor deze studie gaan we gebruik maken van het collar model (voor een gedetailleerde beschrijving zie Von der Thuesen et al., Circulation, 103: 1164-1170, 2001). Dit model staat ons toe om lokaal in de a. carotis atherosclerose ontwikkeling te induceren en hierdoor is het ook mogelijk om lokale interventies te doen, in ons geval lokaal VEGF-C of anti-VEGF-C toediening. Bovendien is de a. carotis ook gemakkelijk bereikbaar in tegenstelling tot de aorta bijvoorbeeld, wat imaging met 2-foton microscopie vergemakkelijkt. In deze interventiestudie gaan we naar zowel plaque ontwikkeling (4 weken na collar plaatsing) als plaque progressie (8 weken na collar plaatsing) kijken. We gaan de effecten van stimulatie en remming van lymfe angiogenese in de

adventitia op atherosclerose bestuderen. Om lymfe angiogenese in de adventitia te stimuleren of te remmen gaan we lokaal t.h.v. de collar een pluronic gel aanbrengen (10 μ l). In die gel gaan we ofwel een adenovirus aanbrengen dat VEGF-C/anti-VEGF-C produceert ofwel een fusie-eiwit dat VEGF-C/anti-VEGF-C vrijzet. Op die manier kunnen we gedurende de totale periode van atherosclerose ontwikkeling of progressie lokaal de behandeling toedienen. We gaan naar effecten op plaque grootte en morfologie (aanwezigheid van verschillende subsets van inflammatoire cellen) kijken. Verder gaan we ook de lymfecapillairen in vivo proberen in beeld te brengen en nagaan of er migratie van cellen plaatsvindt in en/of uit de adventitia via die lymfecapillairen. Onze hypothese is dat er een lokaal circuit is tussen de omliggende lymfeklieren en de adventitia en dat de lymfecapillairen transport mogelijk maken van cellen tussen beiden.

a. Interventiestudie: VEGF-C/anti-VEGF-C

Om de effecten van stimulatie of remming van lymfe angiogenese op atherosclerose ontwikkeling en progressie te bestuderen, gaan we lokaal bovenop de collar rond de a. carotis een pluronic gel toedienen waarin ofwel een adenovirus zit dat VEGF-C/anti-VEGF-C produceert ofwel een fusie-eiwit dat VEGF-C/anti-VEGF-C vrijzet. VEGF-C zal de aanmaak van nieuwe lymfe capillairen in de adventitia stimuleren. Anti-VEGF-C zal de aanmaak van nieuwe lymfe capillairen in de adventitia afremmen. De muizen zullen worden opgeofferd aan het einde van het experiment.



- Muizen : **ApoE^{-/-} muizen – plaque ontwikkeling** (48 mannen: 16 controle (= lege gel), 16 met VEGF-C en 16 met anti-VEGF-C)
ApoE^{-/-} muizen – plaque progressie (48 mannen: 16 controle (= lege gel), 16 met VEGF-C en 16 met anti-VEGF-C)
- Week 0 : Start hoog cholesterol rijk dieet (0.25% cholesterol) tot het einde van het experiment
 Week 2: collar plaatsing + toediening van de gel met VEGF-C bovenop de collar (10 μ l)
 Week 6: Opoffering plaque ontwikkeling muizen
 Week 10: Opoffering plaque progressie muizen

Bij de opoffering worden de linker en rechter a. carotis geïsoleerd om effecten op plaque grootte en inhoud te bestuderen.

Bloed wordt afgenomen via het hart om een plasma cholesterol bepaling te doen. De dieren worden geperfuseerd met PBS-nitroprusside. De a. carotis wordt gesneden en gekleurd om de plaque grootte, collageen inhoud, het aantal macrofagen, T cellen en gladde spiercellen te bepalen. Een lyve-1 kleuring wordt gedaan om het aantal lymfevaten in de adventitia te meten. De cellulaire samenstelling van de adventitia wordt bepaald d.m.v. FACS analyse.

b. 2-foton microscopie

Om de lymfecapillairen in de adventitia in beeld te brengen gaan we een gelabeld anti-lyve-1 antilichaam in de lymfeklier dichtbij de a. carotis (cervicale lymfeklier) inspuiten. Dat antilichaam zal ook de lymfevaten kleuren. Hiervoor dient de muis onder anesthesie te worden gebracht. Direct na injectie van het antilichaam kunnen we m.b.v. 2-foton microscopie de lymfecapillairen in beeld proberen te brengen. Direct hierna worden de muizen opgeofferd.

Om na te gaan of er celtransport plaatsvindt in en/of uit de adventitia via deze lymfecapillairen gaan we gelabelde cellen in de omliggende lymfeklier (cervicale lymfeklier) inspuiten en na 24 uur kijken of we deze cellen in de capillairen en adventitia kunnen terugvinden. Hierna worden de muizen opgeofferd.

9. Experimentele condities**9a. Anesthesie**

Inductie en behoud van anesthesie vindt plaats d.m.v. isofluraan (startende met 4% en afbouwend naar $\pm 2.5\%$ afhankelijk van de muis om de muis onder anesthesie te houden). Tijdens anesthesie, worden de ogen behandeld met oogzalf om uitdroging te voorkomen.

9b. Pijnbestrijding

Pre-operatieve analgesie: Indomethacin (0.5mg/kg lichaamsgewicht), een niet-steroidal anti-inflammatoir geneesmiddel (NSAID) en temgesic (0.05 mg/kg lichaamsgewicht).

Post-operatieve analgesie: eerste 48 uur indomethacin (0.5mg/kg lichaamsgewicht), buprenorphine hydrochloride (0.05-0.1mg/kg lichaamsgewicht).

9c. Euthanasie en Humane eindpunten

- Overdosis pentobarbital (115 mg/kg)
- De muizen zullen regelmatig worden gecontroleerd voor mobiliteit, gewichtsverlies, inname van water en voeding en voor hun vacht. Als een muis meer dan 15% gewicht verliest binnen 1 dag of als er meer dan 20% gewichtsverlies is binnen 1 week of in geval van cirkelgang of headtilt, dan dient het dier opgeofferd te worden in overeenstemming met de art.14 functionaris.

Zorg**10a. Ongerief**

De muizen worden gehuisvest in groep. Ze zullen worden onderworpen aan een hoog vetrijk dieet (=01). Muizen in de plaque ontwikkeling groep zullen in totaal 6 weken op dieet staan. Muizen in de plaque progressie groep zullen 10 weken op dieet staan. De muizen die een collar plaatsing krijgen en toediening van een lokale gel met VEGF-C of anti-VEGF-C zullen onder anesthesie worden gebracht hiervoor en het ongerief dat zij door de operatie zullen ondervinden is matig tot ernstig (=04) en zal afnemen na herstel (max. 1 week). Dit zijn de muizen in groep 1 en 2. Het ongerief van de muizen die gebruikt zullen worden voor het in beeld brengen van de lymfecapillairen en cel transport zal matig zijn (=03) omdat ze onder anesthesie zullen worden gebracht. Dit zijn de muizen die behoren tot groep 3. De muizen worden opgeofferd aan het einde van het experiment.

	type	ongerief	duur
muis groep 1	Hoog cholesterolrijk dieet	=01	6 en 10 weken, respectievelijk
Muis groep 1	Collar plaatsing	=04	1 week
Muis groep 2	2-foton microscopie om lymfecapillairen in beeld te brengen en cel transport te bestuderen	=03	1 uur voor de muizen die gebruikt worden om lymfecapillairen in beeld te brengen; 24 uur voor de muizen die gebruikt worden om cel transport te bestuderen

10b. Welzijnsevaluatie

Uit ervaring binnen onze groep weten we dat we uitval kunnen verwachten na collar plaatsing. Verder verwachten we geen uitval.

11. Verzorging en huisvesting

Huisvesting en verzorging van de dieren gebeurt volgens de Nederlandse Wetgeving inzake dierwelzijn, met water en voeding ad libitum. De muizen worden gehuisvest op de Als we gebruik zouden maken van een adenovirus voor de muizen in groep 1, dienen de muizen gedurende 1 week gehuisvest te worden in Daarna mogen ze weer naar de verhuisd worden. Bij problemen, contacteer

12. Deskundigheid

Alle medewerkers die betrokken zijn bij deze studie zijn ervaren in het hanteren van de dieren (art.9 of art. 12).

13. Standard Operation Procedures (SOP)

Dieet samenstelling:

15% cocoa boter, 1% mais olie, 0.25% cholesterol, 40.5% sucrose, 10% corn starch, 5.95% cellulose (Hope Farms, Woerden, NL).

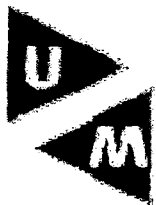
Collar plaatsing: zie toegevoegde SOP

Opoffering: De dieren worden opgeofferd met een overdosis pentobarbital (6:4)

SOP Collar plaatsing en aanbrengen van de pluronic gel

De chirurgische ingreep vindt plaats onder aseptische condities.

- de muis wordt in een kamertje verzadigd met 4.0% isofluraan gemengd met perslucht onder anesthesie gebracht en met 2.5% isofluraan gemengd met perslucht onder anesthesie gehouden
- de ogen van de muis worden behandeld met oogzalf om uitdroging te voorkomen
- de muis wordt gefixeerd en op 36.5 gradenC gehouden via een gethermostreerde verwarmingsplaat.
- de voorzijde van de nek wordt geschoren en de huid gedesinfecteerd (betadine). Een mediale longitudinale incisie wordt gemaakt van ca. 1 cm. Door het scheiden van de m.sternocleidomastoideus van de trachea komt de a.carotis aan de rechter zijde van de muis bloot te liggen.
- de carotis communis wordt vrijgeprepareerd van het omringende bindweefsel waarbij erop gelet wordt de nervus vagus niet te beschadigen. Onder de carotis communis worden drie ligaturen (**hecht-zijde 6-0**) klaargelegd, waarmee later de collar kan worden bevestigd.
- een 2 mm lange collar (Silastic tubing met een binnendiameter van 0.3 mm, overlangs doorgesneden) wordt om de a. carotis communis gelegd en met de drie ligaturen vastgelegd.
- 10 µl pluronic gel wordt bovenop de collar gepipetteerd.
- de m.sternocleidomastoideus wordt teruggeplaatst en de huid over de wond wordt gesloten (**synthetisch hechtdraad 5-0**).
- de muis komt bij in een temperatuur gereguleerde kamer (30 gradenC).



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, 29-06-2011

Geachte Onderzoeker,

Uw projectaanvraag: "*De rol van adventitiële lymfe capillairen in atherosclerose*", is op de DEC vergadering van 24 juni 2011 besproken.

De DEC heeft een aantal vragen en opmerkingen:

- Bij punt 7c merkt de DEC op dat dit 2 losstaande vraagstellingen betreft, die simultaan getoetst zouden kunnen worden met gebruik van 1 controlegroep, hetgeen op basis van het principe van reductie zeer wenselijk is. Immers, indien toediening van VEGF-c de pathologie niet verergert, sluit dat niet uit dat er geen rol is voor endogene VEGF-c productie in de pathologie. Met andere woorden dat het remmen van VEGF met bijvoorbeeld anti-VEGF-c de pathologie niet zou verminderen. Indien beide onafhankelijke vraagstellingen door de onderzoekers van (klinisch) belang worden geacht, kan het experiment in zijn geheel met 1 controlegroep worden uitgevoerd.
- Tevens vraagt de DEC zich af op basis waarvan de methode van interventie bepaald kan worden.

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 2011-093, gelieve dit nummer in verdere correspondentie te vermelden.

Hoogachtend,

Voorzitter DEC-UM

Aan: DEC commissie

5 juli 2011

Betreft: DEC 2011-093

Geachte leden van de DEC commissie,

Bij deze zou ik mijn DEC graag willen herdienen. Ik heb rekening gehouden met de commentaren en deze aangepast (zie grijs gemarkeerd in de tekst van het DEC protocol). Ik heb beide interventiestudies gecombineerd tot 1 studie zodat dezelfde controlegroep kan gebruikt worden en hiermee het aantal proefdieren gereduceerd wordt. Ik ga akkoord met de denkwijze van de DEC commissie betreft het feit dat endogeen VEGF-C nog steeds een effect kan hebben, los van extern toegediend VEGF-C. Het ene sluit het andere niet uit, vandaar dat beide interventies, VEGF-C en anti-VEGF-C simultaan uitgevoerd kunnen worden.

Met vriendelijke groet,

Aan:

Ons kenmerk

Doorkiesnummer
043-Maastricht
18-07-2011**Project:** *De rol van adventitiële lymfe capillairen in atherosclerose.*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: 2011-093
Diersoort: muis
Aantal dieren: 102
Einddatum: 15-07-2015

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