

geleidingsformulier aanvraag dierproef DEC- UM *

DECNR: [REDACTED]

Aangepast voorblad

Ontvangen: 07-07-2011

C datum goedkeuring#	Type aanvraag 2
04-2011	Nieuw

VROM/GGONR ³
[REDACTED]

LNV/CBDNR ⁴

oefproject	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	Ander UM	Geen UM
------------	------------	------------	------------	------------	------------	----------	---------

elproject	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
-----------	------------	------------	------------	------------	------------	------------	------------

anciële reder	[REDACTED]
------------------	------------

Budgetnummer	[REDACTED]
--------------	------------

el van het onderzoek:

modulatie van de immuunrespons door CD40L(CD154)-CD40-TRAF interacties tijdens virale myocarditis.

rtdatum 1 April 2011 einddatum ⁹ 1 April 2015 Duur van de proef¹⁰: 37 dagen

Naam Tel (+ Tel privé enkel VO, VVO en VM) E-mailadres Bevoegdheid⁵ Cap. groep /afdeling⁸

erantwoordelijk erzoeker (VO)	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
ervanger VO (VO)	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
erantwoorde- medewerker	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
VO GGO ⁷	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
verige	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
oerenden	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]

Diergroep	1	2	3	4	5	6	7	8
exp/sham	sham	exp	sham	exp	sham	exp	sham	exp
ersoort	01	01	01	01	01	01	01	01
m	C57Bl/6J	C57Bl/6J	C57Bl/6J	C57Bl/6J	C57Bl/6J	C57Bl/6J	C57Bl/6J	C57Bl/6J
nstruct / mutatie ?	C57Bl/6J-Wt CD40L-/-, CD40- /-, CD40-TRAFwt, CD40-TRAF2/3/5, CD40-TRAF6, CD40-T2/3/5/6 7 dagen	C57Bl/6J-Wt CD40L-/-, CD40- /-, CD40-TRAFwt, CD40-TRAF2/3/5, CD40-TRAF6, CD40-T2/3/5/6 7 dagen	C57Bl/6J-Wt CD40L-/-, CD40- /-, CD40-TRAFwt, CD40-TRAF2/3/5, CD40-TRAF6, CD40-T2/3/5/6 35 dagen	C57Bl/6J-Wt CD40L-/-, CD40- /-, CD40-TRAFwt, CD40-TRAF2/3/5, CD40-TRAF6, CD40-T2/3/5/6 35 dagen	C57Bl/6J-Wt CD40L IgG treatment, CD40 IgG treatment 7 dagen	C57Bl/6J-Wt CD40L IgG treatment, CD40 IgG treatment 7 dagen	C57Bl/6J-Wt CD40L IgG treatment, CD40 IgG treatment 35 dagen	C57Bl/6J-Wt CD4 IgG treatment, CD IgG treatment 35 dagen
rkkomst (leverancier) *	01 en 02	01 en 02	01 en 02	01 en 02	01 en 02	01 en 02	01 en 02	01 en 02
ntal	112	140	112	140	144	180	144	180
slacht	M	M	M	M	M	M	M	M
ren immuuncompetent ?	nee	nee	nee	nee	nee	nee	nee	nee
eftijd/gewicht	8/12 weken	8/12 weken	8/12 weken	8/12 weken	8/12 weken	8/12 weken	8/12 weken	8/12 weken
el van de proef *	31	31	31	31	31	31	31	31
lang van de proef *	1	1	1	1	1	1	1	1
xicologisch onderzoek *	1	1	1	1	1	1	1	1
zondere technieken *	1	1	1	1	1	1	1	1
esthesie *	04	04	04	04	04	04	04	04
nbestrijding *	01	01	01	01	01	01	01	01
te ongerief *	03	04	03	05	03	05	04	05
estand dier einde exp*	1	1	1	1	1	1	1	1

1 Verantwoording

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

Titel: Modulatie van de immuunrespons door CD40L(CD154)-CD40-TRAF interacties tijdens virale myocarditis.

1. Doel van de proef.

Hartfalen vormt een van de belangrijkste gezondheidsproblemen in de westerse wereld en zorgt voor een enorme druk op de gezondheidszorg wereldwijd. Ondanks medische interventies blijven de sterftelijfers voor deze ziekte hoog. Een van de oorzaken van hartfalen bij jonge mensen is myocarditis, waarbij een ontsteking in de hartspier ontstaat, deze kan worden veroorzaakt door een virusinfectie of andere factoren. De sterke reactie van het immuunsysteem hierop kan blijvende gevolgen hebben in het hart en leiden tot hartfalen en hartritmestoornissen.

Het is bewezen dat de co-stimulatoire moleculen CD40L(CD154) en CD40 belangrijke regulatoren zijn van de immuunrespons tijdens verschillende ziektebeelden. Zo heeft recent onderzoek aangetoond dat de potente immuunmediator CD40 een belangrijke rol speelt in de ontwikkeling van atherosclerose. Het blokkeren van CD40-CD40L interacties in knock-out muizen resulteerde in een afname van atherosclerose[1]. Door anderen is aangetoond dat CD40L-CD40 interacties een rol spelen bij verschillende auto-immuunziekten.

De CD40 receptor heeft geen eigen signaaltransductie pathway en maakt daardoor gebruik van adaptor moleculen, de TNF Receptor Associated Factors (TRAFs). Het doel van deze proef is het bestuderen van de rol van het CD40L-CD40 co-receptor systeem en de TRAFs bij inflammatie tijdens virale myocarditis. Hierbij zal worden bekeken of muizen met een CD40 depletie een verminderde immuunrespons hebben en wat het effect hiervan is op inflammatie in het hart.

Vervolgens zal er worden bekeken welke TRAFs hierbij betrokken zijn. Dit zal worden gedaan door gebruik te maken van CD40 knockout muizen, CD40L(CD154) knockout muizen en CD40 knockout muizen die zijn voorzien van een transgeen CD40 met een mutatie op de bindingsplaats van de verschillende TRAFs. Daarnaast zal dit worden gedaan door gebruik te maken van monoclonale anti-lichamen die CD40 en CD40L(CD154) kunnen blokkeren en activeren.

In deze C57Bl6 muizen zal virale myocarditis worden ge-induceerd door intraveneuze Cocksackie B3 virus (CVB3) injectie.

2. Maatschappelijke relevantie en/of wetenschappelijk belang

Vanwege de hoge morbiditeit en mortaliteit vormt hartfalen een van de belangrijkste gezondheidsproblemen in de westerse wereld en het zorgt voor een enorme druk op de gezondheidszorg wereldwijd. Myocarditis is een van de meest voorkomende oorzaken van onverwacht, plotseling overleiden bij jonge mensen. Met dit onderzoek willen we de mechanismen bestuderen die zorgen voor de heftige insteking van het myocard tijdens virale myocarditis. Door in te grijpen in dit proces zou het mogelijk zijn de gevolgen van myocarditis te beperken.

3. Alternatieven

Alternatieven, zoals celkweek experimenten, kunnen de werking van de hartspier niet voldoende nabootsen. Hierdoor zijn interacties tussen de verschillende celtypen van het hartweefsel en het immuunsysteem wegvallen. Er zijn (nog) geen in vitro modellen die deze complexe processen kunnen nabootsen. Daarnaast kan in de in-vitro modellen geen rekening gehouden worden met de synthese van verschillende cytokines en groeifactoren.

4. Ethische afweging

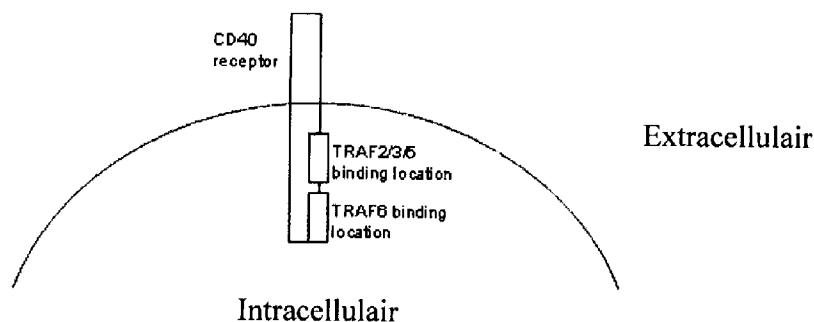
Het is reeds aangetoond dat remming van CD40L in staat is om atherosclerose in muizen te remmen. Daarom is het aannemelijk dat ook bij inflammatie tijdens hartfalen het blokkeren van de CD40L-

CD40 interacties de ontwikkeling van myocarditis kan afremmen. Aangezien dit in de toekomst een mogelijke therapie op kan leveren waarmee myocarditis behandeld zou kunnen worden, weegt het ongerief van de dieren niet op tegen het maatschappelijk en wetenschappelijk gewin van dit onderzoek.

Wetenschap

5. Wetenschappelijke onderbouwing

CD40-CD40L interacties spelen een belangrijke rol in het immuunsysteem waarbij ze o.a. zorgen voor de activatie van T-lymfocyten. Ze hebben ook een aantal T-lymfocyt onafhankelijke functies in het initiëren en in stand houden van ontstekingsprocessen. Verder hebben CD40-CD40L interacties een belangrijke functie in de afbraak van extracellulaire matrix en lijken ze angiogenese te bevorderen. De CD40 receptor heeft geen eigen signaaltransductie en maakt daardoor gebruik van adaptor moleculen; de zogehete Tumor necrosis factor (TNF) Receptor-Associated Factors, ofwel TRAFs. De CD40 receptor heeft twee bindingsplaatsen voor deze TRAFs die worden geactiveerd na binding van CD40L, er is een bindingsplaats voor TRAF2/3/5 en er is een bindingsplaats voor TRAF6 (zie onderstaande figuur).



In het verleden is aangetoond dat remming van CD40L een vermindering geeft van de hoeveelheid atherosclerose en het aantal leukocyten in de plaques vermindert. Daarbij werd gevonden dat vooral de CD40-TRAF6 interacties een belangrijk pro-inflammatoir effect hebben [2].

Virale myocarditis is een ernstige ziekte die vooral jonge mensen treft. De eerste fase en acute fase van myocarditis heeft z'n hoogtepunt een week na infectie en is waarschijnlijk het resultaat van infectie van de myocyten en de inflammatoire response op het virus, dus infiltratie van verschillende populaties leukocyten (T-lymfocyten, monocyten, neutrofiele granulocyten, etc.) in het myocard. De tweede fase kenmerkt zich door een auto-immuun response in het hartweefsel met remodelling en fibrose in het myocard.

In dit experiment willen we de rol van CD40L, CD40, CD40-TRAF2/3/5, CD40-TRAF6, en CD40-TRAF2/3/5/6 interacties tijdens virale myocarditis onderzoeken met behulp van knockout en transgene muizen. De knockout muizen zijn CD40^{-/-} of CD40L^{-/-}. De transgene muizen zijn ook CD40^{-/-} maar hebben een transgene CD40 receptor met mutaties op de bindingsplaatsen van respectievelijk, TRAF2/3/5, TRAF6 of beide (zie bovenstaande figuur) waardoor deze TRAFs niet meer kunnen binden.

Daarnaast zal met behulp van een antilichaam behandeling de gevolgen van CD40-CD40L interacties tijdens hartfalen onderzoeken in Wt (C57Bl6) muizen. Dit biedt meerwaarde omdat we op hiermee op specifieke momenten tijdens het ziekteverloop CD40 interacties kunnen moduleren. Het MR1 antilichaam tegen CD40L werkt blokkerend en het FGK45 antilichaam tegen CD40 werkt activerend. Bij studies met CD40-CD40L interactie blokerende antilichamen is het moment van toedienen van het anti-lichaam van groot belang. [REDACTED]

Om de invloed van CD40 interacties op de acute en lange termijn te bekijken gebruiken we verschillende eindpunten.

Uit ervaring blijkt dat de meeste inflammatie bij C57Bl6 muizen ontstaat 7 dagen na CVB3 infectie. Daarom zal een deel van de muizen na 7 dagen worden opgeofferd en zal het niveau van inflammatie in de hartjes worden bepaald.

Om de kijken naar het effect van CD40 depletie op de blijvende gevolgen van myocarditis (dilate cardiomyopathy), zoals cardiac remodeling en fibrose veroorzaakt door de de auto-immuun respons, zal na 35 dagen door middel van een echocardiografie de hartfunctie worden bepaald. Deze muizen zullen virale myocarditis ontwikkelen na intraveneus toedienen van CVB3.

6. Wetenschappelijke beoordeling

Het project is beoordeeld en goedgekeurd door PI van de vakgroep.

4 Proefdier

7. Proefdier keuze

7a. Soort, stam / herkomst / eindbestemming

Er wordt gewerkt met ko en transgene muizen met een C57Bl6 background. Het betreft: C57Bl6wt, CD40L-/-, CD40-/-, CD40-TRAFwt, CD40-TRAF2/3/5, CD40-TRAF6, CD40-T2/3/5/6 muizen. De muizen zullen na het experiment opgeofferd worden zodat weefselmateriaal kan worden geanalyseerd.

7b. Sexe

De invloed van sexe-verschillen bij mannen en vrouwen op het ontstaan virale myocarditis zijn bekend, doch nog maar gedeeltelijk verklaard. Omdat mannen gevoeliger zijn om virale myocarditis te ontwikkelen en om eventuele hormonale invloeden uit te sluiten wordt dan ook gebruik gemaakt van mannetjes muizen.

7c. Aantallen

In dit onderzoek wordt de mate van inflammatie van de hartspier tijdens virale myocarditis onderzocht 1 week na CVB3 infectie. Mate van inflammatie zal worden bepaald door middel van een histologische kleuring van leukocyten in de hartspier. Daarnaast word bij de andere groep na 35 dagen de hartfunctie bepaald d.m.v. een echocardiografie, verder zal na oppofoeren bij deze groep histologisch worden gekeken naar fibrose in het hart.

De te verwachten variatie coëfficiënt bedraagt 20 % omdat het verloop van de virus infectie niet bij alle individuele muizen hetzelfde uitpakt. Het te verwachten relatief effect is 20% omdat de mate van inflammatie in het hart naar verwachting zal worden beïnvloed door het ingrijpen in de CD40 interacties. Voor de behandeling van 35 dagen verwachten we een zelfde relatief effect van 20% alleen is de uitkomstmaat dan de mate van fibrose in het hart, bepaald op een vergelijkbare manier d.m.v. een histologische kleuring.

Voor een onbetrouwbaarheid van de toets $\alpha = 0,05$ en een onderscheidingsvermogen (π) 80% is $F_{0,80} = 15,7$ dus gewenste P waarde is < 0.05 en power 80%.

Dus $n = 15,7 * (\sigma/\delta)^2$ σ (spreiding), δ (beoogd effect),

$N = 15.7 \times ((0.2 \times 0.2)/(0.2 \times 0.2)) \quad (0.2/0.2)^2 = 1$
 $= 15.7$ dieren

CVB3 infectie leidt bij C57Bl6 muizen tot een mortaliteit van ongeveer 20% na 35 dagen. Omdat de meeste mortaliteit plaatsvindt in de acute fase word ook bij de 7 dagen groep uitgegaan van 20% mortaliteit. Indien 15.7 dieren 80% beslaan van de totale groep, hebben we $(15.7/80) \times 100 = 19.6$ dieren, ofwel 20 dieren, nodig per groep.

In de sham groepen verwachten we geen uitval, daarom zal elke sham-groep bestaan uit 15.7, ofwel 16 dieren.

Groepen knockout en transgene muizen

7 dagen		
Phenotype	Myocarditis	Dieren
1. C57Bl6Wt	geen	16
2. C57Bl6Wt	CVB3 virus	20
3. CD40L-/-	Geen	16
4. CD40L-/-	CVB3 virus	20
5. CD40-/-	geen	16
6. CD40-/-	CVB3 virus	20
7. CD40-TRAFwt	geen	16
8. CD40-TRAFwt	CVB3 virus	20
9. CD40-TRAF2/3/5	geen	16

10. CD40-TRAF2/3/5	CVB3 virus	20
11. CD40-TRAF6	geen	16
12. CD40-TRAF6	CVB3 virus	20
13. CD40-T2/3/5/6	geen	16
14. CD40-T2/3/5/6	CVB3 virus	20
Totaal 7 dagen		252
35 dagen		
Zelfde groepen en condities	geen	112
	CVB3	140
Totaal 35 dagen		252

Groepen antilichaam behandeling:

FGK45 (activating CD40 Ab)

MR1 (inhibiting CD40L Ab)

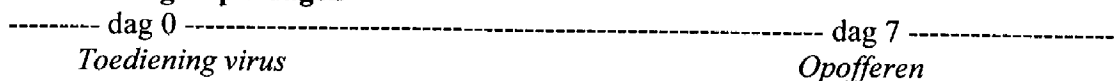
7 dagen				
Groups	Strain	Antilichaam	Myocarditis	Dieren
1.	C57Bl6	geen	geen	16
2.	C57Bl6	anti-CD40L	geen	16
3.	C57Bl6	hamster control IgG	geen	16
4.	C57Bl6	anti-CD40L antibody, delayed treatment	geen	16
5.	C57Bl6	hamster control IgG, delayed treatment	geen	16
6.	C57Bl6	anti-CD40 antibody	geen	16
7.	C57Bl6	rat control IgG	geen	16
8.	C57Bl6	anti-CD40L antibody, delayed treatment	geen	16
9.	C57Bl6	rat control IgG, delayed treatment	geen	16
10.	C57Bl6	geen	CVB3 virus	20
11.	C57Bl6	anti-CD40L antibody	CVB3 virus	20
12.	C57Bl6	Hamster control IgG	CVB3 virus	20
13.	C57Bl6	anti-CD40L antibody, delayed treatment	CVB3 virus	20
14.	C57Bl6	hamster control IgG, delayed treatment	CVB3 virus	20
15.	C57Bl6	anti-CD40 antibody	CVB3 virus	20
16.	C57Bl6	rat control IgG	CVB3 virus	20
17.	C57Bl6	anti-CD40L antibody, delayed treatment	CVB3 virus	20
18.	C57Bl6	rat control IgG, delayed treatment	CVB3 virus	20
Totaal				324
35 dagen				
	C57Bl6	Zelfde groepen en condities	geen	144
	C57Bl6	Zelfde groepen en condities	CVB3 virus	180
			totaal	324

6 Dierproef

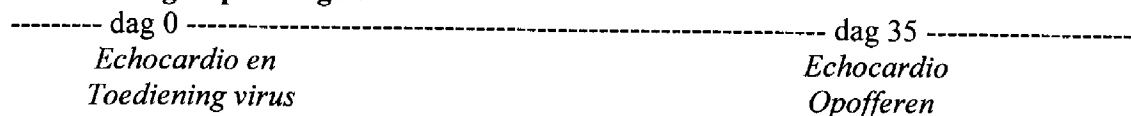
8. Experiment

CVB3 injectie. Hiertoe wordt de muis kort gefixeerd en wordt intraperitoneaal maximaal 200 μ l virus of saline toegediend. Er is gekozen om het virus IP toe te dienen om de volgende redenen; Het is eenvoudiger toedienen en het virus vermenigvuldigt zich eerst in het maagdarmkanaal en de alveesklier. In het werkprotocol zullen de groepen worden opgesplitst per construct.

Flow chart groep 7 dagen



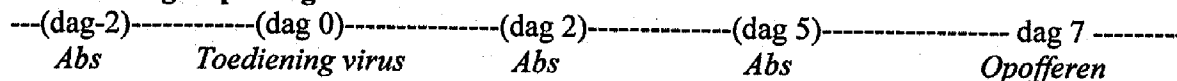
Flow chart groep 35 dagen



Antilichaam behandeling

Voor de in vivo behandeling met CD40L blokkerende anti-lichamen en CD40 activerende antilichamen zijn twee verschillende controlegroepen nodig omdat beide antilichamen van verschillende isotypes zijn (Hamster/Rat). De antilichamen(Abs) worden intraperitoneaal toegediend, 7.5 μ g/kg per muis opgelost in PBS. Toediening is 1x 2 dagen voorafgaand aan virusinfectie en daarna 2x per week. Groepen, condities en aantallen zijn aangeduid onder 7.c.

Flow chart groep 7 dagen



Flow chart groep 35 dagen



2x per week injectie met antilichamen gedurende

9. Experimentele condities

9a. Anesthesie

Voor de echocardiografie worden muizen licht verdoofd met 1.5-2.5 % isofluraan zoals ook beschreven in [REDACTED]

Bij uiteindelijke opoffering zal de muis onder volledige anesthesie gebracht worden met urethaan.

9b. Pijnbestrijding

Bij virale myocarditis is pijnbestrijding niet noodzakelijk omdat de dieren geen pijnlijke procedures ondergaan. Daarnaast zijn de gevolgen van hartfalen (kortademigheid, apathie etc.) lastig te bestrijden met pijnstillers.

9c. Euthanasie en Humane eindpunten

Dieren worden gedood d.m.v. een overdosis CO₂/O₂, waarna de gewenste organen worden uitgenomen.

Virale myocarditis specifieke controles:

- Hartfalen ten gevolge van CVB3-behandeling, gepaard met moeilijk ademen en apathie.
- Geen ernstig ongerief wordt verwacht door de injectie zelf, doch zal de plaats van injectie gecontroleerd worden op ontsteking.

De dieren zullen voortijdig ge-euthanaseerd worden bij:

Het is niet te verwachten dat normale C57Bl/6 muizen veel ongerief ondervinden van een CVB3 infectie omdat muizen van dit type vrij resistent zijn tegen het vormen van virale myocarditis. Daarentegen is het niet bekend hoe de infectie verloopt indien deze muizen een modulatie van hun CD40 receptor ondergaan. Daarom zal extra worden gelet op de symptomen van CVB3 infectie zoals daar zijn, lethargie, gewichtsverlies en "ruffled skin". Deze symptomen hebben hun hoogtepunt tussen dag 6 en 8 na infectie en zullen moeten worden getolereerd. Indien echter deze symptomen een ernstige vorm aannemen dienen de muizen te worden ge-euthaniseerd.

Hartfalen ten gevolge van CVB3-behandeling na de acute fase kan gepaard gaan met moeilijk ademen en apathie ook deze symptomen zullen moeten worden getolereerd behalve als ze ernstige vormen aan nemen.

Daaraast zal worden gelet op niet specifiek door CVB3 veroorzaakt ongerief, zoals 'wasting syndrome' (gewichtsverlies, slecht onderhouden vacht, slecht eten, algemene zwakte), of onvoorziene infecties zal het desbetreffende dier worden afgemaakt.

10a. Ongerief

In de tabel staat per groep de handelingen die ze ondergaan en het geschatte ongerief van de ze handelingen, in de rechtse kolom word een inschatting gemaakt van het totale ongerief.

Groep *	Ongerief Injectie antilichamen	Ongerief Virus injectie 1x (dag 0)	Ongerief Leven met virale myocarditis	Ongerief echocardio 2x	Ongerief narcose opofferen	Totaal ongerief
Exp. gr. knockout en transgene muizen Sham -7 dagen	x	x	x	x	03	03
Exp. gr. knockout en transgene muizen CVB3 virus -7 dagen	x	02	1 week 03	x	03	04
Exp. gr. knockout en transgene muizen Sham - 35 dagen	x	x	x	03	03	03
Exp. gr. knockout en transgene muizen CVB3 virus -35 dagen	x	02	4 weken 04	03	03	05
Exp. gr. Antilichaam injectie Sham - 7 dagen	3x injecties 02	x	X	x	03	03
Exp. gr. Antilichaam injectie CVB3 virus - Antilichaam - 7 dagen	3x injecties 02	02	1 week 03	x	03	05
Exp. gr. Antilichaam injectie Sham - Antilichaam - 35 dagen	9x injecties 03	x	x	03	03	04
Exp. gr. Antilichaam injectie CVB3 virus - Antilichaam - 52 dagen	9x injecties 03	02	4 weken 04	03	03	05

* als een groep een handeling niet ondergaat is het gemarkeerd in de tabel met (x)

Alle muizen worden in groepsverband gehuisvest. De muizen uit de experimentele groep met anti-lichaam behandeling ondergaan 2x per week een injectie (IP) met de antilichamen. Alle dieren in de niet-sham groepen zullen ze eenmalig een CVB3 injectie (IP) ondergaan.

De muizen worden geëuthanaseerd d.m.v. een CO₂/O₂ mengsel. Doordat een aantal groepen lang ongerief ondergaan door het leven met virale myocarditis en daarnaast meerdere handelingen ondergaan wordt het maximale ongerief tijdens dit experiment wordt als ernstig (=05) ingeschat.

10b. Welzijnsevaluatie

CVB3 infectie kan leiden tot ziekte in C57Bl/6 muizen, toch heeft CVB3 infectie weinig zichtbare invloed op het welzijn van muizen met deze genetisch achtergrond. Dit blijkt uit eerdere proeven waarbij C57Bl/6 muizen werden geïnfecteerd met CVB3. De verkoeven kamer maakt dat de dieren niet veel energie aan het handhaven van een goede lichaamstemperatuur hoeven te besteden.

11. Verzorging en huisvesting

De dieren worden in groepsverband gehuisvest en verzorging vindt plaats conform de normen van de [REDACTED]

De muizen worden reeds voor de eerste antilichaam injectie gehuisvest binnen het [REDACTED] in een DMII ruimte en op de dag van de eindmetingen (echo) zullen ze onder urethaan narcose in filtertopkooien worden vervoerd naar de laboratoria op de [REDACTED] (zoals goedgekeurd in [REDACTED]). Voer en dergelijke zijn standaard en gedurende het verblijf in het [REDACTED] zullen de muizen conform dagelijkse praktijk verzorgd worden door de medewerkers van het [REDACTED]. Voor de zorg gedurende de experimentdagen zullen wij de verantwoordelijkheid dragen. Bij calamiteiten dient de VO gewaarschuwd te worden.

12. Deskundigheid

Alle ingrepen en procedures worden door daartoe bevoegde en bekwame personen uitgevoerd.

13. Standard Operation Procedures [REDACTED]

Echocardiografie muis – [REDACTED]

Toediening CD40L en CD40 antilichamen:

- 2x per week, 7.5ug/kg.
- Intraperitoneaal.

Relevante literatuur

1. [REDACTED]
[REDACTED]
2. [REDACTED]
[REDACTED]



University Maastricht

Faculty of Health, Medicine

and Life Sciences

Dierexperimenten Commissie

DEC

Aan: [redacted]
[redacted]
[redacted]

[redacted]
p/a Secretariaat DEC-UM
[redacted]
[redacted]

Uw referentie:

Onze referentie : [redacted]

Maastricht, 29-03-2011

Geachte Onderzoeker,

Uw projectaanvraag: "*Modulatie van de immuunrespons door CD40L(CD154)-CD40-TRAF interacties tijdens virale myocarditis*", is op de DEC vergadering van 25 maart 2011 besproken.

De DEC heeft een aantal vragen en opmerkingen:

- Bij punt 7c verzoekt de DEC de uitval van de shamgroep toe te lichten.
- Bij punt 7c vraagt de DEC zich af op welke parameters de sigma en delta betrekking hebben.
- Bij punt 8 verzoekt de DEC de flowchart compleet te maken en in overeenstemming te brengen met de tijd en de handelingen zoals beschreven.
- Bij punt 10a verzoekt de DEC in een tabel, de aard, ernst, duur en frequentie beter te definiëren per handeling en groep, en het totale ongerief aan te geven en in overeenstemming te brengen met het voorblad. De DEC verzoekt de kolommen op het voorblad op te splitsen. De DEC is van mening dat op diverse plaatsen het ongerief te laag is ingeschat.

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 [redacted], gelieve dit nummer in verdere correspondentie te vermelden.

Hoogachtend,

[redacted signature]

[redacted]
Voorzitter DEC-UM

Van:

Aan:

De Dier Experimentele Commissie,
Faculty of Health, Medicine and Life Sciences
Universiteit Maastricht

Betreft: Wijziging protocol

Maastricht, 29 maart 2011

Geachte heer, mevrouw,

Bij dezen stuur ik u onze antwoorden op vragen van de DEC aangaande het onderzoeksvoorstel in de brief welke is bijgevoegd. Wij kunnen ons goed vinden in het commentaar en hebben deze in aanpassingen omgezet:

1. Bij nader inzien verwachten we geen uitval in de shamgroep, aangezien de handelingen die ze ondergaan nauwelijks gezondheids risico's meedragen.
2. De parameter waarop sigma en delta betrekking hebben is het aantal geïnfiltreerde leukocyten in het hart (maat voor inflammatie).
Sigma (spreiding): Omdat niet alle muizen even ziek worden van het CVB3 virus verwachten we een spreiding van 20%.
Delta (beoogd effect): Het verschil in inflammatie (bepaald aan de hand van een histologische analyse van het hartweefsel) van het hart tussen de groepen waar de CD40 interacties intact zijn en die groepen waarbij de CD40 interacties zijn gemoduleerd. Bij de behandeling na 35 dagen is dit de mate van fibrose in het hart, op een vergelijkbare manier bepaald.
3. De injecties met anti-lichamen zijn toegevoegd aan de flow chart bij punt 8.
4. De aard, ernst, duur en frequentie van de handelingen zijn duidelijker aangegeven in de tabel bij punt 10a, daarnaast zijn de kolommen op het voorblad opgesplitst en is hier de mate van ongerief in overeenstemming gebracht met de groepen in de aanvraag. Het ongerief is bij een aantal groepen, met name de groepen van 35 dagen, wat hoger ingeschat.

De aangepaste versie van ons onderzoeksvoorstel is bijgevoegd met wijzigingen gemarkeerd in grijs.

Ik hoop u hiermee voldoende informatie te hebben verschaft. Bij onvolkomenheden of vragen kunt u vanzelfsprekend te allen tijde contact met mij opnemen.

Vriendelijke groet,

Aan: 



Ons kenmerk


Doorkiesnummer


Maastricht
02-05-2011

Project: *Modulatie van de immuunrespons door CD40L(CD154)-CD40-TRAF interacties tijdens virale myocarditis.*

DEC-UM
Voorzitter DEC-UM

p/a secretariaat DEC-UM

Verantwoordelijk onderzoeker (VO): 

Secretariaat DEC-UM



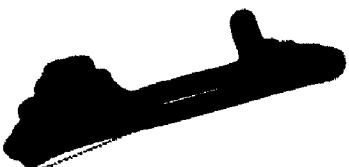



Hierbij delen wij U mede dat voornoemd project aan de ethische toetsingscriteria voor proefdiergebruik voldoet.

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

Projectnummer: 
Diersoort: muis
Aantal dieren: 1152
Einddatum: 29-04-2015

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



Vice-Voorzitter DEC-UM
