

1 Algemene gegevens

1.1	Titel van het project	Endotheliale toxiciteit van bijnierprecursors, hydrocortison en fludrocortison die verhoogd zijn in patienten met congenitale bijnier hyperplasie
1.2	Looptijd van het project	24-4-2015 - 1-5-2016
1.3	Trefwoorden (maximaal 5)	Congenitale bijnier hyperplasie

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.

U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.

- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Projectbeschrijving

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)

Patiënten met een Congenitale bijnierhyperplasie hebben door een enzymdefect in de bijnier een gestoorde vorming van de bijnierhormonen cortisol en aldosteron. Daarnaast hopen zich voorlopers van deze hormonen op. Deze afwijking leidt tot een levensbedreigend ziektebeeld bij geboorte. Indien tijdig herkend kan het ziektebeeld behandeld worden door met tabletten het tekort aan cortisol en aldosteron aan te vullen. Deze behandeling heeft echter een keerzijde: wanneer te veel cortisol en/of aldosteron wordt gegeven ontstaat hoge bloeddruk, overgewicht en suikerziekte waardoor het risico op hart- en vaatziekte op langere termijn toeneemt. Wanneer echter te weinig van deze hormonen wordt toegediend worden teveel voorloperstoffen van cortisol en aldosteron in de bijnier geproduceerd. Het is niet goed bekend wat de effecten van deze voorlopers zijn en mogelijk kunnen deze voorlopers ook vaatschade geven waardoor het risico op hart- en vaatziekte toeneemt.

Wat we op dit moment weten is dat patiënten met congenitale bijnierhyperplasie op volwassen leeftijd een hogere bloeddruk hebben dan een gezonde controlegroep. De oorzaak hiervan is echter bij patiënten niet met zekerheid te zeggen: komt het door een direkt giftig effect van cortisol, aldosteron of hun voorlopers? Of is het een indirekt effect bijvoorbeeld door stijging van bloeddruk ten gevolge van te hoge concentraties van een of meer van deze stoffen?

In dit onderzoek bestuderen we het direkt giftig effect van ieder van deze stoffen (dus cortisol, aldosteron, en hun voorlopers: 17-hydroxyprogesteron, 21-deoxycortisol, androsteendion, progesteron) op de vaatwand, meer in het bijzonder het endotheel (binnenbekleding van bloedvaten). Door dit onderzoek uit te voeren in geïsoleerde bloedvaatjes van gezonde dieren voorkomen we dat de resultaten van de meting verstoord worden door andere aandoeningen die de functie van het endotheel verstoren en die bij patiënten met congenitale bijnierhyperplasie vaker optreden (zoals hoge bloeddruk, overgewicht, suikerziekte). Daarbij richten we ons op een bijzonder aspect van het endotheel: het vermogen om vaatverwijding te geven onder invloed van de stof acetylcholine die het endotheel aanzet tot vrijgeven van vaatverwijdende mediators. We weten dat deze eigenschap van het endotheel gerelateerd is aan het ontstaan van hart- en vaatziekte en hoge bloeddruk.

3.2	Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	Uiteindelijk hopen we met de kennis die door dit onderzoek wordt verkregen, beter in te kunnen schatten wat de voor- en nadelen zijn van over- en onderbehandeling van patienten met congenitale bijnierhyperplasie op de vaatwand. Op termijn hopen we zo de behandeling van (nu nog relatief jonge) patienten met Congenitale Bijnierhyperplasie zodanig te verbeteren dat ze op latere leeftijd minder last krijgen van de invaliderende gevolgen van hart- en vaatziekte zoals hartinfarct, herseninfarct en verstoorde circulatie van de benen.
3.3	Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	<p>Substudie a: minimaal 20, maximaal 60 Wistar ratten Volgens onze statistische berekening zouden 20 ratten (rekening houdend met uitval van 10%) voldoende moeten zijn om een relevant effect van 1 dosis van de 6 genoemde steroiden op acetylcholine-geïnduceerde vaatverwijding te kunnen detecteren. Omdat we bij onvoldoende resultaat de mogelijkheid willen openhouden nog twee additionele doseringen van ieder steroid te onderzoeken zijn voor studie a maximaal 60 ratten noodzakelijk.</p> <p>Substudie b: 20 ratten Omdat de dosering van de (maximaal 2) te bestuderen steroiden uit studie a bekend is zijn voor dit onderdeel 20 ratten noodzakelijk.</p>
3.4	Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?	Het onderzoek begint met het doden van de ratten door middel van een overdosis pentobarbital. Bij leven is er een ongerief code 1, non-recovery (categorie: mild).
3.5	Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	Ongerief code 1 (non-recovery)
3.6	Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	De dieren worden gedood in de proef en afgevoerd.

4 Drie V's

4.1	Vervanging Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.	Bij de mens kan het geïsoleerd effect van 1 steroid(precursor) op endotheelfunctie niet onderzocht worden zonder verstoring door effect op bloeddruk, lichaamsgewicht of andere hormonen. Ratten zijn nodig omdat de vaatjes van ratten lijken op die van de mens. Muizen vaatjes zijn te klein om deze experimenten in uit te voeren.
4.2	Vermindering Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.	Door meerdere vaten per rat te gebruiken is het mogelijk om met een beperkt aantal ratten toch een groot aantal steroid(precursors) te screenen op hun effect op het endotheel. 6 vaten per groep is het absoluut minimum om representatieve resultaten te verkrijgen. Door de onderzoeksvraag op te splitsen in twee substudies, zal bij ontbreken van een effect van de gekozen steroiden op endotheelfunctie het aantal dieren dat voor dit experiment wordt opgeofferd tot een minimum van 20 worden beperkt. Indien substudie a in eerste instantie een negatief resultaat heeft (dwz we detecteren geen effect van een steroid op endotheelfunctie) dan willen we graag het onderzoek herhalen bij hogere doseringen van de diverse steroiden. Een maximum van in totaal 60 ratten zal voor substudie a worden ingezet. Omdat we door de resultaten van substudie a weten welke dosis van de steroiden we moeten gebruiken, hebben we voor substudie b slechts 20 ratten nodig.
4.3	Verfijning Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diersmodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.	Het gebruik van minder complexe diersoorten maakt translatie naar de mens onmogelijk. De mesenteriaal vaatjes van muizen zijn te klein voor toepassing in de Mulvany myograaf. Daarom is gekozen voor de rat. Het onderzoek kan helaas niet in de mens worden uitgevoerd omdat dan het directe effect van de steroiden op de vaatwand niet kan worden bestudeerd doordat systemische effecten van de steroiden (bloeddrukstijging, glucose stijging, toename lichaamsgewicht en beginnende atherosclerose) de resultaten van de metingen zal vertekenen. De vaatjes worden verwijderd uit gezonde ratten. Het onderzoek gebeurt in geïsoleerde vaatjes in een orgaanbad. In deze geïsoleerde gezonde vaatjes bestuderen we het effect van steroiden die verhoogd aanwezig zijn bij patiënten met congenitale bijnierhyperplasie. Door deze onderzoeksopzet kunnen we heel precies conclusies trekken over de acute effecten van deze steroiden op het endotheel van deze vaatjes. De effecten die we op dit endotheel meten hebben een belangrijke rol in het ontstaan van atherosclerose. Daardoor kunnen we met deze onderzoeksopzet precies nagaan of deze steroiden na korte blootstelling reeds veranderingen in het endotheel veroorzaken die atherosclerose bevorderen. Dit is precies de vraag die we met dit onderzoek proberen te beantwoorden. Deze vraag zouden we niet zo precies kunnen beantwoorden wanneer we de ratten in leven zouden blootstellen aan deze steroiden omdat dan ook andere effecten van deze steroiden (zoals toename in lichaamsgewicht, bloeddrukstijging en stijging van glucose) zouden bijdragen aan de effecten op de vaatwand.

4.4 Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.	Doden zal geschieden onder minimaal invasieve anaesthesie. De invloed van pentobarbital op de uitslag van onze experimenten achten we verwaarloosbaar en kunnen worden uitgesloten door toepassing van controleexperimenten. het doden van ratten zonder anestheticum of hypnoticum achten we niet acceptabel vanwege het daarmee gepaard gaand risico op onnodig leed bij het dier.
---	---

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum	23 april 2015
Beoordeling achteraf	nee