



Niet-technische samenvatting 20198665

1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Het effect van sociale stress op de organisatie van 24-uursritmes in muizen
1.2 Looptijd van het project	1-10-2019 tot 1-10-2024
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	chronobiologie, circadiane ritmiek, stress

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.	<input checked="" type="checkbox"/> Fundamenteel onderzoek
	<input type="checkbox"/> Translationeel of toegepast onderzoek
	<input type="checkbox"/> Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
<i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i>	<input type="checkbox"/> Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid
	<input type="checkbox"/> Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
	<input type="checkbox"/> Hoger onderwijs of opleiding
	<input type="checkbox"/> Forensisch onderzoek
	<input type="checkbox"/> 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)	Vrijwel alle fysiologische processen in het lichaam vertonen duidelijke en nauwkeurig op elkaar afgestemde 24-uursritmes die het gevolg zijn van endogene (interne) oscillatoren in de weefsels en organen. Al deze endogene of circadiane ritmes worden op hun beurt gecoördineerd door een masterklok die gelokaliseerd is in de suprachiasmatische nuclei (SCN) van de hypothalamus. Het systeem van oscillatoren zorgt voor een precieze tijdsafstemming van allerlei processen variërend van hormoonafgifte, temperatuurregulatie en leverfunctie tot eetgedrag, waken en slapen. Een verstoring van deze precieze organisatie kan grote gevolgen hebben voor de gezondheid. Eén van de factoren die een negatieve invloed zou hebben op de organisatie van 24-uursritmes is stress, met name oncontroleerbare chronische stress. Zo'n verstoring van de 24-uursritmes zou één van de mechanismes kunnen zijn waarlangs stress leidt tot verminderd welzijn en ziekte.
---	---

Recente studies in ons eigen lab hebben bevestigd dat de masterklok in de SCN ongevoelig lijkt voor stress terwijl de klok in de lever wel lijkt te verschuiven. Het doel van het hier beschreven vervolgproject is om vast te stellen of ook de klokken in andere organen en weefsels worden beïnvloed door stress en stresshormonen. Verder zal worden onderzocht wat een verstoring van de moleculaire klok voor gevolgen heeft op de functionele activiteit van deze organen of weefsels. Er zal bij deze studies gebruik gemaakt worden van een goed gevalideerd muizenmodel voor sociale stress waarbij de experimentele dieren gedurende 20 minuten in de kooi van een dominante soortgenoot geplaatst worden.

In het eerste experiment (A) zal worden vastgesteld wat de effecten zijn van sociale stress op 24-uurs ritmiek in verschillende organen. Na blootstelling aan stress zullen lever, milt, vetweefsel en hersens worden vrijgeprepareerd en in speciaal medium kunstmatig in werking worden gehouden. In deze preparaten kunnen dan nauwkeurig de 24-uursritmes worden gemeten aan de hand van de productie van specifieke klokeiwitten.

In het tweede experiment (B) wordt onderzocht of de effecten van acute en chronische sociale stress op de ritmes in verschillende organen worden veroorzaakt door glucocorticoid stress hormonen. Hiertoe zullen muizen voorafgaand aan elke stress een injectie krijgen met een stof die het effect van de stresshormonen blokkeert.

In het derde experiment (C) zal worden onderzocht of het hormoon melatonine afgegeven door de pijnappelklier een beschermende werking kan hebben tegen effecten van stress op circadiane ritmes door het stress experiment te herhalen in muizen met of zonder melatonine productie.

In het vierde experiment (D) wordt in meer detail onderzocht wat de eerder gevonden verschuiving van de leverklok na stress betekent voor de functionele activiteit van dit orgaan. Gemeten zal worden wat het effect is van stress op verschillende klokgenen en genen die direct betrokken zijn bij de regulatie van glucose spiegels.

3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?

Deze studies zullen nieuwe kennis opleveren over de organisatie van 24-uursritmes en de invloed van stress daarop. Dit is belangrijke fundamentele kennis omdat endogene biologische klokken en daarmee samenhangende ritmes in fysiologie en gedrag een belangrijk eigenschap is die gedeeld wordt door alle diersoorten. Bovenal zal dit project bijdragen aan specifieke kennis over gevolgen van chronische stress op circadiane organisatie in relatie tot welzijn. Chronische stress kan grote gevolgen hebben voor de gezondheid en is een belangrijke oorzaak van persoonlijk leed en ziekte. Inzicht in de lichamelijke effecten van stress en de mechanismes die ten grondslag liggen aan stress-gerelateerde ziektes is van groot belang voor de ontwikkeling van strategieën voor behandeling en preventie. In dit project worden specifiek de effecten van stress op circadiane ritmiek bestudeerd omdat veranderingen hierin een belangrijk mechanisme zouden kunnen zijn van aan stress gerelateerde aandoeningen.

3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?

Muis, max 588

3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het

De belangrijkste vorm van ongerief is het herhaaldelijk blootstellen van de muizen aan sociale stress. De experimentele dieren worden hiertoe gedurende 20 minuten in de kooi van een dominante soortgenoot geplaatst,

welzijn van de proefdieren?

waarvan de eerste 5 minuten en de laatste 5 minuten gescheiden door een tussenwand. De werkelijke fysieke interactie duurt dus maximaal 10 minuten (matig ongerief).

Indien er bij experiment A duidelijke effecten worden gevonden van stress op de circadiane ritmiek in bepaalde weefsels, dan worden vervolggexperimenten B en C gedaan om vast te stellen wat hierin de rol is van stresshormonen en wat de invloed is van melatonine. Hiertoe ontvangen de muizen injecties met een stof die de effecten van stresshormoon blokkeren (mild ongerief) of wordt de melatonine producerende pijnappelklier operatief verwijderd (matig ongerief).

3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?

Het maximale ongerief van de beschreven experimenten bestaat uit een combinatie van bovengenoemde handelingen. Een dergelijke proefopzet zal in z'n totaliteit maximaal een matig ongerief met zich mee brengen.

3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop?

Dieren worden aan het eind van de experimenten geëuthanaseerd waarbij materiaal verzameld wordt voor het meten van circadiane ritmiek in het laboratorium.

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.

Het circadiane systeem is uiterst complex. Vrijwel elk weefsel heeft zijn eigen ritmiek maar tegelijkertijd kunnen de weefsels en organen elkaar beïnvloeden. De reactie van dit systeem op stress kan verschillen tussen organen, maar juist door de interactie en verbindingen tussen de organen en weefsels kan het effect van stress alleen goed bestudeerd worden in intacte dieren. Vervanging door een proefdiervrij alternatief is niet mogelijk.

4.2 **Vermindering**
Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.

Een belangrijke vorm van vermindering wordt bereikt door gebruik te maken van zogenaamde Period2::Luciferase knock-in muizen, waarin de productie van het klokeiwit Period2 is gekoppeld aan de productie van luciferase, een enzym dat bioluminescentie (het uitstralen van licht, zoals bijv. door vuurvliegjes) veroorzaakt. De bioluminescentie kan vervolgens gebruikt worden voor het meten van circadiane ritmiek in verschillende organen. Met deze methodes kan over een periode van 5-10 dagen circadiane ritmiek gemeten worden in één dier terwijl dat voorheen vaak gedaan werd door een serie muizen op te offeren op verschillende tijden van de dag.

4.3 **Verfijning**
Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

Er is gekozen voor de muis als modelsoort o.a. om redenen genoemd onder 4.2. De beschikbaarheid van Period2::Luciferase knock-in muizen maakt het mogelijk om circadiane ritmiek te meten over een langere periode in verschillende organen binnen hetzelfde dier. Daarnaast is het zo dat de muis ook in eerdere studies veelvuldig is gebruikt als model voor studies naar de gevolgen van sociale stress. Ook om die reden is deze soort uiterst geschikt voor dit project.

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

De sociale stress procedure is zo opgezet dat de daadwerkelijke fysieke interactie wordt beperkt tot maximaal 10 minuten, voorafgegaan en gevolgd door een periode van 5 minuten waarin de experimentele dieren gescheiden zijn van het dominante dier, maar diens bedreigende aanwezigheid wel kunnen zien en ruiken.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

6 december 2019

Beoordeling achteraf

Nee

Andere opmerkingen

Nee