



Niet-technische samenvatting 2016589

1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Chronobiologische gevolgen van sociale stress in muizen
1.2 Looptijd van het project	1-4-2016 tot 1-4-2021
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	chronobiologie, circadiane ritmiek, slaap, stress.

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project. <i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Fundamenteel onderzoek
	<input checked="" type="checkbox"/> Translationeel of toegepast onderzoek
	<input type="checkbox"/> Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
	<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)	Chronische stress kan een sterke negatieve invloed hebben op ons welzijn en is een belangrijke risicofactor voor allerlei ziektebeelden waaronder metabole, cardiovasculaire en psychiatrische aandoeningen. Een potentieel mechanisme dat ten grondslag kan liggen aan stress-gerelateerde ziektebeelden is een verstoring van het circadiane systeem. Dit systeem van interne klokken of oscillatoren in de weefsels en organen zorgt voor nauwkeurig op elkaar afgestemde 24-uursritmes in vrijwel alle fysiologische en processen en gedragingen variërend van hormoonafgifte, temperatuurregulatie en leverfunctie tot eetgedrag, waken en slapen. Een verstoring van deze precieze organisatie kan grote gevolgen hebben voor de gezondheid. Het doel van dit project is om nauwkeurig vast te stellen wat de effecten zijn van chronische stress en stresshormonen op het circadiane systeem en het slaap-waakritme.
---	---

In een eerste experiment zal worden vastgesteld wat de potentiële directe effecten zijn van stresshormonen op circadiane oscillaties in verschillende organen. Uitgeprepareerde en kunstmatig in werking gehouden levers, harten en hersens zullen in het laboratorium direct gestimuleerd worden met de stresshormonen adrenaline en glucocorticoiden. Wat het effect is op de 24-uursritmes in de betreffende organen wordt gemeten aan de hand van de productie van specifieke klokeiwitten.

In een tweede serie experimenten zal gebruik gemaakt worden van een algemeen getest en erkend muizenmodel voor sociale stress waarbij de experimentele dieren gedurende 20 minuten in de kooi van een dominante soortgenoot geplaatst worden. Met dit model wordt onderzocht wat de effecten zijn van acute en chronische sociale stress op circadiane oscillaties in verschillende organen. Muizen worden blootgesteld aan één 20 minuten durende sessie van sociale stress of tien van deze sessies tijdens opeenvolgende dagen. Na de laatste stress-sessie worden wederom verschillende organen en weefsels verzameld voor het meten van de 24-uursritmes in productie van specifieke klokeiwitten. Daarnaast wordt er in andere groepen muizen vastgesteld wat de circadiane gevolgen zijn op gedragsniveau door het meten van het circadiane activiteitsritme en het slaap-waakritme. Voor het meten van de slaap-patronen worden muizen uitgerust met elektrodes voor continue registratie van hersenactiviteit (elektro-encefalogram, EEG).

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 het circadiane systeem en de invloed die stresshormonen daarop hebben. Dit is belangrijke fundamentele kennis omdat endogene biologische klokken en daarmee samenhangende circadiane ritmes in fysiologie en gedrag een belangrijk eigenschap is die gedeeld wordt door alle diersoorten. Bovenal zal dit project bijdragen aan specifieke kennis over de effecten van chronische stress op circadiane organisatie en slaap-waakritmiek, iets wat bijzonder belangrijk is voor de gezondheidszorg. 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 en slaap 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 700)

3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?

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, 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 duidelijke effecten worden gevonden van stress op de circadiane ritmiek, dan worden er vervolggexperimenten gedaan om de rol van stresshormonen in de stresseffecten te bepalen. Hiertoe worden muizen volgens standaardprocedures onder volledige narcose geopereerd om de bijnamen te verwijderen (matig ongerief).

Voor het meten van slaap-waakpatronen worden muizen volgens standaardprocedures onder volledige narcose geopereerd en voorzien van EEG-elektrodes voor het meten van hersenactiviteit (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 één van bovengenoemde operaties (verwijdering bijniere(n) of implantatie van EEG/EMG elektrodes), na een ruime periode van herstel gevolgd door sociale stress voor een periode van tien dagen. Omdat er tussen de operatie en de aanvang van de stressprocedure een ruime periode van herstel is ingebouwd zal een dergelijke proefopzet 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 getermineerd. In enkele experimenten wordt, nadat de dieren geëuthanaseerd zijn, materiaal verzameld 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 proefdier-vrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

Het circadiane systeem is uiterst complex. Vrijwel elk weefsel heeft zijn eigen ritmiek. De reactie van dit systeem op stress kan verschillen tussen organen. Daarnaast is ook de slaap een uiterst complex fenomeen, bestaand uit twee totaal verschillende vormen: de NREM-slaap en REM-slaap. De regulatie daarvan en de invloed van stress kan daarom alleen bestudeerd worden in intacte dieren. Vervanging door een proefdier-vrij 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 te termineren op verschillende tijden van de dag.

4.3 **Verfijning**

Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diersoort(en) 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

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

(schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

zijn van het dominante dier, maar diens bedreigende aanwezigheid wel kunnen zien en ruiken. Daarnaast vinden de noodzakelijke operaties voor het verwijderen van bijnieren of het plaatsen van EEG elektrodes plaats onder volledige narcose, inclusief noodzakelijk pijnstilling en post-operatieve zorg.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

8 augustus 2016

Beoordeling achteraf

Nee

Andere opmerkingen

De vergunning loopt van 3 augustus tot en met 1 juli 2021