

Deelproject aanvraagProjectnummer: **-220**

Ontvangst: 01-03-2010

I Project Onderzoek• *Aanvrager*

Naam

Organisatie/Eenheid

Onderafdeling

Adres

Postcode

Plaats

Telefoon

E-mail

Vergunninghouder

: [1] RUG

• *Algemeen*

Titel basisproject : Telomeerlengte en snelheid van telomeerverkorting als biomarkers van veroudering en fenotypische kwaliteit.

Aanvang basisproject : 01-04-2010

Gewenste duur : 4 jaar

Voorgaande (deel)project(en) :

Geldstroom : [1] 1e geldstroom

Subsidiegever : n.v.t.

• *Eind- of medeverantwoordelijke*

Titel en naam

• *Andere personen betrokken bij de handelingen aan proefdieren*

Naam

Functie

Deelproject• *Algemeen*

Titel deelproject : Reproductieve inspanning, oxidatieve stres en telomeerverkorting bij kauwen

Aanvang deelproject : 01-04-2010

Gewenste duur : 2 jaar

II Onderzoeksopzet• *Behaalde resultaten*

Vanuit in vitro experimenten weten we dat telomeer verkorting grotendeels veroorzaakt wordt door oxidatieve biochemische moleculen welke "single strand breaks" veroorzaken op het gehele chromosoom, inclusief de telomeer-regioenen. Het is dus goed mogelijk dat telomeerverkorting DNA schade reflecteert op de rest van het chromosoom. Het is echter nog onbekend of in vivo oxidatieve stres gerelateerd is aan DNA schade en telomeerverkorting. Het onderzoek naar deze relaties levert cruciale informatie op over de biologische functie van telomeren binnen het individu. Uit ons eigen onderzoek is gebleken dat een manipulatie van reproductieve inspanning van de ouders grote effecten heeft op de ontwikkeling van hun jongen met betrekking tot groei en telomeer verkorting. Het is nog in grote mate onbekend wat de effecten van reproductieve inspanning zijn op de ouders. De verwachting is dat een vergrootte reproductieve inspanning een verhoogde oxidatieve stres tot gevolg heeft, welke DNA schade en telomeerverkorting induceert.

• *Vraagstelling van het deelproject*

Wat is het effect van reproductieve inspanning tijdens het broedseizoen op dna-schade (gemeten door dna single strand breaks m.b.v. comet assays, en telomeerverkorting), oxidatieve stres (gemeten in het plasma) en overleving? Is telomeerverkorting gerelateerd aan dna-schade op de rest van het chromosoom?

• *Onderzoeksopzet*

Tijdens het broedseizoen wordt, in twee groepen kauwen, de mate van reproductieve inspanning gemanipuleerd door het aantal jongen in het nest te verkleinen dan wel te vergroten. Doordat kauwen erg plaatstrouw zijn en een erg sterke paarband hebben kunnen we dezelfde paren meerdere broedseizoenen achter elkaar manipuleren. Door nu bij de twee groepen ieder jaar dezelfde manipulatie uit te voeren kunnen de cumulatieve gevolgen van verhoogde dan wel verlaagde werkdruk over een langere periode gevolgd worden. Observaties op de plaats van de kolonie en de omgeving van Haren leveren de gegevens mbt. overleving.

• *Beschrijving van de uitvoering van de experimenten*

Reproductief succes wordt bepaald aan de hand van nestcontroles die dagelijks plaatsvinden tijdens de periode van eileg om de exacte legvolgorde te bepalen en elke 5 dagen tijdens het jongenstadium (zie deelproject

Vooraf wordt besloten (random) welke paren vergroot of verkleind broedsel krijgen. Gedurende latere broedseizoenen zullen dezelfde paren steeds dezelfde manipulatie ondergaan. Mogelijke effecten van deze manipulatie worden verwacht op overleving, oxidatieve stress en dna-schade (gemeten in het bloed) en op individuele beslissingen met betrekking tot reproductieve inspanning in het volgende jaar (met name legdatum, legselgrootte en eivolume).

Vijf dagen na het uitkomen van het eerste ei van een legsel wordt de manipulatie uitgevoerd. Hierbij worden uit de te verkleinen broedsels 2-4 jongen gehaald en deze jongen worden vervolgens aan de te vergroten broedsels toegevoegd, waarna 1-2 jongen uit dit broedsel teruggeplaatst worden in het verkleinde nest. De aantallen worden zo gekozen dat de netto verandering in het aantal jongen 1 of 2 is.

Wanneer de groeifase van de jongen zijn piek bereikt (ca. 20 dagen na uitkomst van het 1e ei) worden de ouders gevangen in hun nestkast. Alle individuen worden gewogen en bloedmonsters en lichaamsmaten worden genomen.

• *Ongerief voor dieren*

Handeling	Ongerief
bloedmonsters afnemen	[1] gering
Kauwen worden gevangen in hun nestkast. Van alle individuen worden bloedmonsters genomen met behulp van capillairs uit de Vena brachialis. Van de adulten wordt eenmalig .5 ml genomen (een Kauw weegt 200 - 250 g). Van de jongen wordt eenmalig een bloedmonster genomen van .5 ml (op 20 dagen oud, een jong weegt dan 200 g) en tweemaal een monster van 50ul (op 5 en 30 dagen oud, een jong op dag 5 weegt 50 g). Hierbij blijven we binnen de norm van 8 ml/kg lichaamsgewicht / 14 dagen. Tevens worden lichaamsmaten genomen, en wordt de vogel gewogen.	
* Broedselgrootte manipulatie	[1] gering
De effecten van de manipulatie zal met betrekking tot de handeling zelf geen extra ongerief opleveren ten opzichte van deelproject 5871A, wel is er een effect te verwachten met betrekking tot overlevingskansen van de jongen alsmede de ouders. Dit effect kan zowel positief zijn (in het geval van de verkleinde groep) als negatief.	

Totaal ongerief deelproject

[1] gering

Toelichting

Het vangen ten behoeve van de identificatie en het nemen van de bloedmonsters zal enig ongerief veroorzaken. Verder wordt niet met de dieren geïnterfereerd en verwachten we daarom geen extra ongerief.

Verfijning van uitvoering

Het ongerief is al gering en wij zien geen mogelijkheid om dat verder te verminderen.

• *Dieren: soort(en) en aantal(len) voor de periode van dit deelproject*

Diersoort	Stam	Inteelt	Aantal
And. Vogels kauw Corvus monedula	n.v.t.	Geen inteelt	248

Motivering aantal dieren

Wij streven naar twee groepen (verkleinde en vergrote legfels) van 31 paren per groep in het eerste jaar (totaal is 124 individuen). Door sterfte (jaarlijkse overleving bedraagt ca 65%) zullen deze groepen in het hierop volgende jaar aangevuld moeten worden met nieuwe paren. In totaal zullen zo 62 broedsels gemanipuleerd worden per jaar. Gemiddeld zijn er 3.5 jongen per broedsel wat neerkomt op 217 jongen per jaar, welke gebruikt worden. Het aangevraagd aantal dieren in dit deelproject bevat dus niet de jongen - die worden aangevraagd. Deze steekproefgrootte berust op voorgaand onderzoek waarbij een effect gevonden was met een effect size $r=0.24$ (NS). Het totaal gebruikte broedparen was laag ($n=20$) waarvan er maar van 22 individuen het effect van manipulatie bepaald kon worden. Dit komt doordat het effect van manipulatie op telomeerverkorting pas gemeten kan worden in het opvolgende jaar. Van de 40 individuen kwamen er 18 individuen niet terug. Volgens de power calculator van Russ Lenth is een steekproefgrootte benodigd van 62 broedparen bij een $r=0.24$ om een power te verkrijgen van 80% en dat vinden we voldoende.

Vermindering van aantallen

De statistische power wordt verhoogd, en daarmee de benodigde aantallen verlaagd, door dieren als hun eigen controle te gebruiken, in die zin dat we in het jaar dat een dier voor het eerst gemanipuleerd wordt ook de telomeren meten, en naar telomeerveranderingen kunnen kijken in plaats van absolute lengtes.

III Proefdierkundige gegevens

• Dieren: herkomst en huisvesting

Herkomst van dieren

[5] gevangen in de vrije natuur, vervolgens weer vrijgelaten

Toelichting herkomst van dieren

Vrijlevende kauwen worden eenmalig gevangen voor het afnemen van bloedmonsters tijdens het reproductief seizoen, en meteen na bemonstering vrijgelaten.

Dieren uit ander onderzoek

De adulte dieren in dit experiment zijn deels overlevende dieren van voorgaand onderzoek

Afwijkende huisvesting

vrijlevend

Locatie van de experimenten

[9] Elders nl.

Elders

gemeente Haren incl. Biologisch centrum

• Anesthesie en pijnbestrijding

Anesthesie

[1] wordt niet toegepast (geen aanleiding)

Welke of waarom niet

n.v.t.

Pijnbestrijding (per- en) postoperatief

[1] wordt niet toegepast (geen aanleiding)

Zo ja: Welke

Diersoort	Medicament	Dosering (mg/kg)	Route	Interval (uur)
-----------	------------	------------------	-------	----------------

Eventuele andere pijnbestrijding

n.v.t.

Toedieningsschema: frequentie en periode

n.v.t.

• Einde experiment

Toestand dier na proef

[3] na einde proef in leven laten

Indicaties humane eindpunten

n.v.t.

Wijze van termineren

n.v.t.

IV **Biotechnologie**

Type	Nummer en specificatie
------	------------------------