

Proefdierkundig Jaarverslag 2010



Biomedical Primate Research Centre



INHOUDSOPGAVE

Inleiding	3
Onderzoeksonderwerpen binnen het BPRC	4
Traject voorafgaand aan een dierproef	4
Dierexperimenten Commissie	5
 Dierexperimenteel onderzoek	
Aantal DEC aanvragen	6
Details dierexperimenteel onderzoek	7
 Alternatieven	
Huisvesting	8
Welzijn en verrijking	9
Unit Alternatieven	10
Alternatieven binnen de andere wetenschappelijke afdelingen	12
Uitgelicht: Promotieonderzoek aan Alternatieven	15
Deelname gremia	21

Het Biomedical Primate Research Centre (BPRC) is een wetenschappelijk instituut dat zowel verkennend als toegepast biomedisch onderzoek verricht. Daarnaast levert het BPRC een actieve bijdrage aan de ontwikkeling van alternatieven voor dierproeven.

Het doel van het verkennend onderzoek is verdieping van de kennis over het ontstaan en het beloop van chronische en infectieziektes. Het doel van het toegepast onderzoek is een bijdrage te leveren aan de ontwikkeling van nieuwe medicijnen of behandelingen voor ernstige ziektes. Dit zijn langdurige processen die helaas -nog- niet mogelijk zijn zonder dierproeven en zij gaan dan ook vergezeld met maatschappelijke zorg over het welzijn van de proefdieren. Naast de incorporatie van de **3V** principes (**V**ervanging, **V**ermindering en **V**erfijning) in zowel het verkennend als het toegepast onderzoek, wordt er binnen het BPRC in een aparte Unit aan de ontwikkeling van alternatieven voor dierproeven gewerkt.

Het BPRC onderkent de verantwoordelijkheid die de inzet van dieren ten behoeve van de menselijke gezondheid met zich meebrengt. In het kader van maatschappelijk verantwoord ondernemen (MVO) streven wij ernaar om mede middels dit proefdierkundig jaarverslag het publiek te informeren en openheid te verschaffen over de projecten waarvoor dieren worden ingezet, de rol van de dierexperimenten commissie, de aantallen dieren die ingezet zijn in 2010, alsmede over de ontwikkelingen op het gebied van alternatieven voor dierproeven. In dit jaarverslag ligt de nadruk op primaten, maar zijn ook alle cijfers verwerkt die betrekking hebben op -het geringe aantal- experimenten waarbij knaagdieren zijn ingezet.



Onderzoeksonderwerpen binnen het BPRC

De gezondheid van mensen in de ontwikkelde delen van de wereld is de afgelopen 100 jaar aanzienlijk verbeterd. Mensen leven langer en vaak in betere gezondheid. Deze verbeteringen zijn deels het gevolg van de geneesmiddelen en vaccins die in deze periode, vaak mede dankzij proefdier onderzoek, zijn ontwikkeld. Om ziektes die nog niet voorkomen of genezen kunnen worden succesvol te bestrijden is uitbreiding van onze kennis noodzakelijk. Biomedisch onderzoek vormt dan ook de basis voor de ontwikkeling van nieuwe en veilige medicijnen en therapieën.

Het BPRC is het grootste niet-commerciële primatencentrum van Europa en speelt een centrale rol bij het biomedisch onderzoek naar ernstige menselijke ziektes. Het BPRC verricht geen onderzoek voor de ontwikkeling van cosmetica, recreatieve drugs of wapens. Momenteel wordt er bij het BPRC onderzoek verricht met als doel om ziektes zoals AIDS, malaria, tuberculose, multiple sclerose, de ziekte van Parkinson en reumatoïde artritis te bestrijden. Tevens wordt er gewerkt aan medische vraagstukken zoals transplantaatafstoting. De Nederlandse wet bepaalt dat hiervoor alleen apen ingezet mogen worden als er geen geschikte alternatieven zijn. Naast onderzoek waarbij proefdieren ingezet worden, wordt er in dit kenniscentrum ook onderzoek gedaan om alternatieven voor het gebruik van proefdieren te ontwikkelen. Het BPRC heeft een actief en uitgebreid programma voor het ontwikkelen van alternatieven volgens de principes van de **3V's** die staan voor **V**ervanging, **V**ermindering en **V**erfijning. Onderzoek naar het ontwikkelen van alternatieven is ondergebracht in een unieke, onafhankelijke Unit. Daarnaast wordt in alle andere onderzoeksafdelingen het gebruik en het ontwikkelen van alternatieven actief ondersteund en gestimuleerd.

Traject voorafgaand aan een dierproef

Voordat een dierproef uitgevoerd kan worden, is er al een lange weg afgelegd. De eerste selectie van mogelijke kandidaat-geneesmiddelen vindt altijd plaats in het laboratorium door middel van *in vitro* technologie. Hoe beter deze technologie de *in vivo* situatie benadert, des te beter de voorspellende waarde voor de eventuele werking in de mens. Na een *in vitro* testfase kunnen mogelijk interessante ideeën of moleculen in aanmerking komen voor *in vivo* testen. Zulke ideeën of moleculen kunnen binnen het BPRC, maar ook binnen andere onderzoekscentra, universiteiten of kenniscentra ontwikkeld zijn. Belangrijk is dat, ondanks al het verrichte voorwerk, er in geen geval een dierproef gestart kan worden zonder dat daarvoor een positief advies van de dierexperimenten commissie is afgegeven.

Dierexperimenten Commissie

De Wet op de Dierproeven schrijft voor dat een experiment waarbij proefdieren ingezet worden pas mag worden uitgevoerd wanneer de dierexperimenten commissie (DEC) hierover een positief advies heeft uitgebracht aan de vergunninghouder van de instelling waar de proef wordt uitgevoerd. De DEC bestaat uit deskundigen op het gebied van dierproeven, alternatieven voor dierproeven, dierenbescherming en -welzijn en toegepaste (bio-)ethiek alsmede uit niet-deskundigen die uit verschillende geledingen van de samenleving afkomstig zijn. De voorzitter van de DEC is géén BPRC werknemer. De proefdierdeskundige die krachtens artikel 14 van de wet is aangesteld bij het BPRC, is permanent adviseur van de DEC en neemt zonder stemrecht aan de DEC vergaderingen deel. Om de onafhankelijkheid van deze positie te waarborgen heeft het BPRC er voor gekozen om voor deze positie een externe kandidaat aan te stellen.

De DEC heeft de lastige taak om het te verwachten ongerief van het proefdier af te wegen tegen het wetenschappelijk belang van het experiment. Elk afzonderlijk experiment wordt in een plenaire vergadering met alle DEC leden uitgebreid besproken. Vaak heeft de commissie aanvullende informatie nodig voordat ze tot een beslissing kan komen.

Een belangrijk onderdeel van de ethische afweging die de DEC maakt is de taak om het voorstel om proefdieren in te zetten nauwgezet te toetsen op de mogelijkheid alternatieve methoden te gebruiken. Als de beoogde antwoorden ook zonder inzet van proefdieren (vervanging), of met de inzet van minder proefdieren (vermindering), of met een andere proefopzet waarbij de proefdieren minder ongerief ondervinden (verfijning), verkregen zouden kunnen worden dan zal de DEC negatief adviseren en wordt de voorgenomen dierproef niet uitgevoerd.



Aantal DEC aanvragen

In 2010 zijn er door de DEC van het BPRC in totaal 58 aanvragen in behandeling genomen en van advies voorzien, waarvan 27 nieuw.

Over 12 nieuwe aanvragen werd positief geadviseerd, en bij 7 van de nieuwe aanvragen werd een intentie tot een positief advies uitgebracht, maar moest de onderzoeker nog aanvullende vragen beantwoorden en aan voorwaarden voldoen. 8 van de nieuwe aanvragen werden, soms herhaaldelijk, terug gestuurd naar de onderzoeker met het verzoek om meer informatie. Uiteindelijk kregen 25 van de nieuwe aanvragen een positief advies, is er bij één aanvraag geen advies gegeven na terugtrekking van de aanvraag door de onderzoeker, en was één aanvraag nog onder behandeling aan het einde van 2010.

De overige 31 aanvragen betroffen aanpassingen op al lopende experimenten. Omdat er tijdens experimenten omstandigheden kunnen veranderen, is het soms noodzakelijk om de onderzoeksplannen tijdens de uitvoering van het experiment aan te passen. Het betreft veelal kleine wijzigingen die geen extra ongerief met zich meebrengen of soms zelfs gericht zijn op het verminderen van het ongerief. Het kan ook zijn dat de onderzoeker dient te anticiperen op de uitkomsten van een onderzoek. Toch dienen ook zulke aanpassingen door de DEC beoordeeld te worden. 5 keer werd pas een advies gegeven na verstrekking van aanvullende informatie, en éénmaal werd de aanpassing in het onderzoeksplan teruggetrokken door de onderzoeker voordat er advies over uitgebracht was. In totaal werd er in 2010 30 keer een positief advies uitgebracht over aanpassingen.

Het ontbreken van negatieve adviezen kan hoogstwaarschijnlijk worden toegeschreven aan een uniek voortraject waarin niet goed onderbouwde onderzoeksvoorstellen worden uitgefilterd. Onderzoekers dienen voorgenomen experimenten aan de hand van een uitgebreid formulier zeer nauwkeurig te beschrijven, alsmede de mogelijkheden en onmogelijkheden tot het gebruik van alternatieven te verkennen en te onderbouwen. Deze experimenten zijn daarvoor vaak al op wetenschappelijke kwaliteit beoordeeld en gevalideerd door collega's in het onderzoeksveld. Vervolgens wordt de aanvraag door de proefdierdeskundige en door een door het BPRC ingestelde interne leescommissie op volledigheid nagekeken voordat het uiteindelijk voor advies wordt ingediend bij de DEC. De kans dat hier dan nog slecht doordachte of ethisch onafgewogen voorstellen tussen zitten is daarmee buitengewoon gering geworden.

Details dierexperimenteel onderzoek

In totaal werden er in 2010 24 studies bij het BPRC verricht waarbij in totaal 290 proefdieren ingezet zijn. Meer specifiek zijn er 168 resusmakaken ingezet in 19 studies, 62 marmosetapen (ook bekend als witoorpenseelaapjes) in 4 studies, en 66 knaagdieren in 1 studie.

Bij het BPRC worden experimenten verricht die de volgende doelen dienen: onderzoek m.b.t. de mens (pre-klinisch onderzoek zoals de ontwikkeling van vaccins en geneesmiddelen) en onderzoek met als doel een antwoord te krijgen op wetenschappelijke vragen (hier wordt bijvoorbeeld ook het onderzoek naar het gedrag van apen onder gecategoriseerd). Tabel 1 geeft weer hoeveel dieren voor de verschillende onderzoeksdoelen zijn gebruikt.

Doelen	Resusmakaken	Marmosets	Knaagdieren
Onderzoek m.b.t. de mens	147	35	66
Wetenschappelijke vraag	21	27	0

Tabel 1. Aantallen ingezette dieren per doel.

Een belangrijke factor voor het advies dat een DEC geeft, is het te verwachten ongerief voor de ingezette proefdieren. Daarnaast houdt de DEC bij het bepalen van het advies ook rekening met de duur van het ongerief. Beiden zijn afhankelijk van de aard van het experiment. Hoe hoger en langer het te verwachten ongerief, des te zwaarwegender moeten de wetenschappelijke en volksgezondheid belangen zijn om het experiment te mogen uitvoeren. Ondanks dat ongerief moeilijk is te kwantificeren blijken de volgende categorieën in de praktijk goed bruikbaar:

1, gering ongerief (zoals een enkele bloedafname, maar ook onnatuurlijke huisvesting); 2, gering tot matig ongerief; 3, matig ongerief (zoals frequente bloedafnames en vaccinatie); 4, matig tot ernstig ongerief; 5, ernstig ongerief (zoals ziekte verschijnselen van AIDS, tuberculosis, artritis); 6, zeer ernstig ongerief. Onderzoek waarbij zeer ernstig ongerief vooraf wordt ingeschat wordt niet geaccepteerd binnen het BPRC.

In tabel 2 is per diersoort het ontvangen ongerief gespecificeerd.

Ontvangen ongerief	Resusmakaken	Marmosets	Knaagdieren
Gering	0	0	0
Gering/matig	22	0	0
Matig	61	24	66
Matig/ernstig	34	0	0
Ernstig	51	38	0
Zeer ernstig	0	0	0

Tabel 2. Ingeschat ongerief ondergaan door ingezette dieren.

ALTERNATIEVEN

Huisvesting

Het overgrote deel van de apen bij het BPRC is gehuisvest in sociale groepen die met zorg zijn samengesteld en die continu worden gemonitord op gezondheid en sociaal welzijn. In 2010 zijn in de fokkolonie van het BPRC 138 geboortes geweest bij de resusmakaken, 22 bij de Java makaken en 46 bij de marmosets. Het is daardoor niet nodig geweest om voor het onderzoeksprogramma van het BPRC niet-humane primaten van elders aan te kopen.



In 2010 is het nieuwe onderzoeksgebouw waar gewerkt wordt met biologisch ingeperkte agentia in gebruik genomen. De nieuwe kooien voor makaken zijn allemaal voorzien van bedding en hebben verschillende lagen en compartimenten waarbij de dieren veel kunnen bewegen en zelf hun voorkeursplaats kunnen bepalen. Parallel aan het in gebruik nemen van de nieuwe kooien worden de dieren getraind om ze te laten wennen aan experimentele procedures. Om het welzijn nog verder te verbeteren worden de dieren in de experimentele faciliteiten in principe altijd sociaal gehuisvest. De conventionele experimentele faciliteiten, met ook daar de grote, nieuwe kooien zullen in 2011 klaar zijn. Vanaf 2011 zijn alle dieren gehuisvest in grote verblijven die ruim voldoen aan de nieuwste Europese richtlijnen.

Welzijn en verrijking

Naast de fok is in 2010 verder gewerkt aan het opzetten van onderzoek om het welzijn van de dieren bij het BPRC verder te optimaliseren. Het trainings- en verrijkingsprogramma speelt hierbij een belangrijke rol. In 2010 is in samenwerking met EUPRIM-NET de Engelse vertaling verschenen van het verrijkinghandboek voor makaken en marmosets. Dit handboek is voor de beroepsgroepen die werken met niet-humane primaten op aanvraag vrij verkrijgbaar via onze website. Een groot aantal boekjes is inmiddels al over Europa verspreid.



In 2010 is het EU programma EUPRIM-NETI afgesloten en is een nieuwe EU subsidie verkregen voor EURPRIM-NETII. Het BPRC is ook in dit project betrokken bij zowel onderzoek als onderwijs activiteiten. Binnen de Animal Science Department zal vanuit EUPRIM veel aandacht besteed worden aan veterinaire aspecten, gezondheidscontrole's van de kolonie, dierenwelzijnsaspecten en aan het opleiden van medewerkers tot betere diertrainers.

Verschillende onderzoekslijnen binnen de ASD richten zich op dierenwelzijn en koloniemanagement. Hieraan werken naast de betrokken onderzoekers vaak studenten van verschillende hogescholen en universiteiten mee. Daarnaast zijn samenwerkingsverbanden opgezet met Universiteiten in Utrecht, Gent en Kopenhagen. Zo wordt onderzoek gedaan aan stresshormoon bepalingen in haar, nieuwe assays voor bepalen van ontstekingsreacties, en het skelet van marmosets. Dit onderzoek zal mede bijdragen aan het verder optimaliseren van de wijze waarop makaken en marmosets gehouden worden. Daarnaast wordt er veel gedragsonderzoek uitgevoerd (zie ook "Uitgelicht: Promotieonderzoek aan Alternatieven").

Openheid met het gebruik van niet-humane primaten bij het BPRC wordt vanzelfsprekend verzorgd via de jaarverslagen. Naast de jaarverslagen leiden we echter ook op verzoek veel groepen rond op ons instituut, waarbij we inzage geven in het houden van de dieren en het onderzoek. In 2010 hebben we rondleidingen verzorgd voor een aantal MBO, HBO en universitair studenten vanuit binnen- en buitenland, en geïnteresseerde leken. Daarnaast worden er in samenwerking met de Universiteit Utrecht cursussen met betrekking tot gedragsonderzoek gegeven.

ALTERNATIEVEN

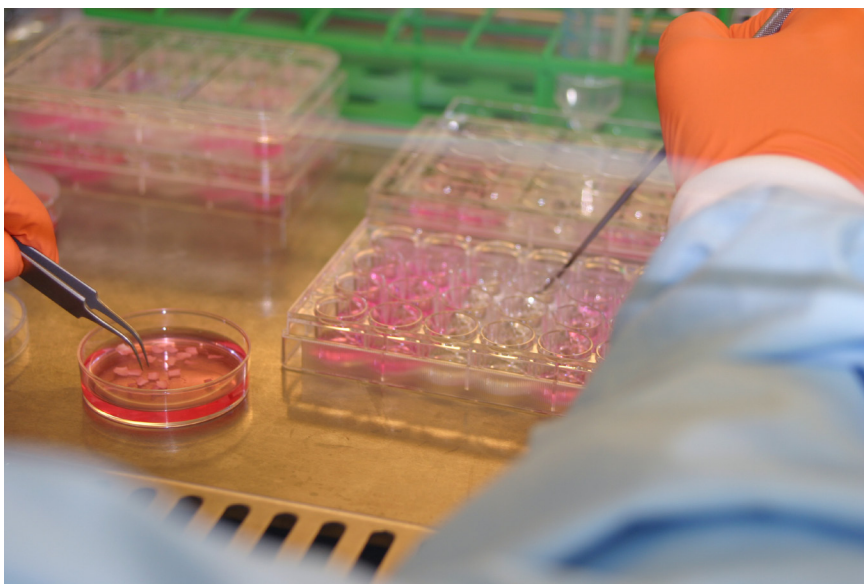
Unit Alternatieven

Binnen de Unit Alternatieven wordt wetenschappelijk onderzoek verricht met als doel het vervangen, verminderen of verfijnen van dierexperimenteel onderzoek. Daarnaast fungeert de Unit Alternatieven als centrale communicatiebron voor de onderwerpen die te maken hebben met alternatieven voor dierproeven binnen het BPRC en wordt actief bijgedragen aan het publieke debat over dierproeven en de alternatieven daarvoor. Dit gebeurt mede middels publicatie van dit proefdierkundig jaarverslag.

Het wetenschappelijk onderzoek binnen de Unit Alternatieven is georganiseerd langs twee hoofdlijnen. Voor beide hoofdlijnen is in 2010 steun verworven van de Europese Unie, waarvoor de Unit binnen het kader van EUPRIM-NETII het onderzoek naar alternatieven voor primaten coördineert.

De eerste onderzoekslijn is gericht op het ontwikkelen van *in vitro* methodiek die ingezet kan worden om experimenten met levende dieren te vervangen, te verminderen of te verfijnen. Veel teststoffen hebben effecten op bepaalde celtypen. Door kweekmethoden op te zetten voor deze specifieke celtypen (middels primaire celkweek of stamcel technologie) kunnen kandidaat teststoffen in een pre *in vivo* fase op deze celkweken getest worden. Primaire celkweken worden opgezet vanuit bloed of stukjes dierlijk of menselijk materiaal zoals verkregen uit biopsen of van donoren. Belangrijke notie daarbij is dat er nooit dieren specifiek geofferd worden voor de start van deze experimenten, maar dat er altijd sprake is van dieren die vanwege ouderdom of beëindiging van een ander experiment ge-euthanaseerd worden. In tegenstelling tot het werk met cellijnen zijn deze kweeksystemen vaak kortdurend en eindig. Toch hebben primaire celkweken vaak een betere voorspellende waarde dan cellijnen en is het dus de tijd en moeite waard om deze bij herhaling op te zetten. Het belangrijkste voordeel van cellijnen, hun onsterfelijkheid, is namelijk tevens hun belangrijkste nadeel. Onsterfelijke cellijnen verliezen na verloop van tijd hun cel-specifieke eigenschappen en lijken dan nog het meest op tumorcellen waardoor het testen van bepaalde ideeën of behandelingsmethoden niet goed meer mogelijk is.

In 2010 is uitgebreid gebruik gemaakt van in voorgaande jaren ontwikkelde technologieën waarbij met name cellen uit het centraal zenuwstelsel gekweekt zijn (astrocyten en microglia), alsmede cellen die een belangrijke rol spelen in het immuunsysteem (macrofagen en dendritische cellen opgekweekt uit bloed en beenmerg). Studies met deze celtypen hebben niet alleen



geleid tot verschillende fundamenteel nieuwe inzichten, maar hebben ook hun nut als pre *in vivo* testfase bewezen (zie ook: “Uitgelicht: Promotieonderzoek aan Alternatieven”). Daarnaast zijn wij gestart met het opzetten van complexere *in vitro* systemen zoals zeer dunne plakjes hersenweefsel om de werkelijkheid op die manier zo goed mogelijk te benaderen. Ultiem doel is om de diermodellen uiteindelijk geheel te kunnen vervangen door *in vitro* methoden.

Een tweede onderzoekslijn is gericht op verfijning van de immunisatie protocollen binnen het instituut. Om het immuunsysteem extra te activeren wordt er bij mensen en proefdieren vaak gebruik gemaakt van adjuvantia. Eén van de krachtigste adjuvantia die bij proefdieren gebruikt wordt is compleet Freund’s adjuvant (CFA). Helaas gaat het gebruik van dit adjuvant vaak gepaard met ongewenste bijwerkingen zoals ontstekingen van de injectieplaatsen (zie ook: “Uitgelicht: Promotieonderzoek aan Alternatieven”). Binnen de Unit wordt op verschillende manieren gewerkt aan de vervanging van CFA door een adjuvant met vergelijkbare werking maar met minder of geen bijwerkingen.

Om de ongewenste bijwerkingen te modelleren hebben wij in de afgelopen jaren een *in vitro* granuloma model opgezet, waarvoor menselijk bloed gebruikt wordt en maken wij gebruik van zelf ontwikkelde bioassays om de gewenste immuunstimulatorische werking van een adjuvant te kunnen testen. Beide technieken zijn volledig proefdiervrij en worden nu gebruikt in top-down en bottom-up benaderingen.

Bij de top-down benadering nemen we het oorspronkelijke CFA als uitgangspunt en proberen we in de bacteriestam die daar in aanwezig is, middels mutatietechnologie, kleine veranderingen aan te brengen om zodoende de onwenselijke bijverschijnselen te verminderen. Bij de bottom-up benadering is het oorspronkelijke CFA in zeer kleine onderdelen opgesplitst en worden deze onderdelen allen eerst afzonderlijk in bioassays getest op de gewenste immuunstimulatorische activiteit. Onderdelen die immuno-actief actief zijn zouden dan in de toekomst als basisbouwstenen voor een nieuw adjuvant gebruikt kunnen worden. In 2010 hebben we met name vooruitgang geboekt in de top-down benadering. Verschillende gemuteerde bacteriestammen zijn geselecteerd die *in vitro* veel minder granulomas veroorzaken dan de oorspronkelijk in CFA aanwezige stam. Deze stammen zullen in 2011 verder opgewerkt worden voor *in vivo* validatie als vervangingsalternatief voor CFA. Aangezien CFA behalve in apen ook in veel andere proefdieren gebruikt wordt, heeft een eventueel succes om CFA bijwerkingsvrij te krijgen waarschijnlijk ook implicaties voor vele andere proefdieren.

Alternatieven binnen de andere wetenschappelijke afdelingen

De 3V's binnen het BPRC hebben niet exclusief onderdak bij de Unit Alternatieven. Ook binnen de andere onderzoeksafdelingen wordt er hard aan de toepassing van Alternatieven voor Dierproeven gewerkt.

Binnen de afdeling **Vergelijkende Genetica en Verfijning** wordt uitsluitend gewerkt met *in vitro* technologieën. Het DNA voor genetische bepalingen wordt tijdens de jaarlijkse gezondheidsbewaking verkregen uit een bloedmonster. Verschillende genetische kenmerken bepalen de gevoeligheid voor of resistentie tegen bepaalde ziektes. Veel van deze kenmerken zijn gekoppeld aan de genen (erfelijk materiaal) van het Major Histocompatibiliteits Complex (MHC) dat bijzonder veel variatie vertoont. Voor het bepalen van al deze allelen (variaties van genen in de populatie) is een techniek ontwikkeld die het mogelijk maakt om dergelijke analyses accuraat, snel en met kleine hoeveelheden materiaal uit te voeren. Bij deze techniek wordt er gebruik gemaakt van het lengte-verschil van microsatellieten. Deze microsatellieten bestaan uit korte stukjes DNA, namelijk twee tot zes nucleotiden (bouwstenen van het DNA), die vaak gedupliceerd worden. Het aantal herhalingen (repeats) is erfelijk en daardoor typerend voor een individu. Een aantal van deze merkers bevinden zich in of in de buurt van de MHC-genen. Het gevolg is dat microsatelliet-profielen kenmerkend kunnen zijn voor bepaalde MHC-types. Omdat de lengtes makkelijk te bepalen zijn, kunnen de genetische kenmerken van de dieren snel en efficiënt vastgesteld worden.

In de voorafgaande jaren hebben wij deze methode gebruikt om bepaalde groepen van MHC-genen te bepalen van resusmakaken (Mamu-DRB en Mamu-A). In 2010 is het bovendien gelukt om een andere groep van MHC-genen op deze manier te typeren (Mamu-B). Ook zijn wij erin geslaagd om microsatellieten te detecteren die het hele MHC van de resusaap kunnen karakteriseren. Twee groepen van MHC-genen kunnen inmiddels ook in andere soorten Oude Wereld apen, zoals de Java-aap en de Baviaan, bepaald worden. Dit zal ook kunnen leiden tot verfijning van experimenten buiten het BPRC, aangezien zowel de Java-aap als de Baviaan door veel wetenschappers in preklinisch modellen ingezet worden.

Naast het MHC zijn ook de 'killer cell immunoglobulin-like receptor' (KIR) eiwitten belangrijk voor de immuunafweer. De KIR-eiwitten komen voor op gespecialiseerde witte bloedcellen, de zogenaamde 'natural killer' (NK) cellen, die onder andere betrokken zijn bij afweerreacties tegen virussen en kankercellen, en een belangrijke rol spelen tijdens de zwangerschap. Net als de genen van het MHC vertonen ook de KIR-genen bijzonder veel variatie. In 2010 is het gelukt om met specifieke moleculaire technieken verschillende groepen van KIR-genen, die in onze resusapen voorkomen, te karakteriseren.

Daarmee zijn twee groepen van belangrijke immuunogenen (MHC en KIR) voor de resusaap onderzocht, en kunnen dankzij dit onderzoek dieren uitgezocht worden die geschikt zijn bijvoorbeeld voor onderzoek naar AIDS. Tevens kunnen dieren, waarvan is gebleken dat op basis van hun MHC deze ongevoelig zijn voor bepaalde ziektes, voor deelname aan experimenten worden uitgesloten. Op dit moment is dit het geval in het kader van onderzoek naar reumatoïde artritis. Dit leidt direct tot een vermindering van het aantal ingezette dieren.

In de proefdierkundige jaarverslagen van 2008 en 2009 rapporteerde de afdeling **Immunobiologie** over de ontwikkeling van een nieuw experimenteel model voor multipale sclerose (MS) in penseelaapjes (marmoset, *Callithrix jacchus*) door immunisatie met een 23-meer peptide in incompleet Freund's adjuvant (IFA). Dit model is een aanmerkelijke verfijning ten opzichte van het oude, met compleet Freund's adjuvant (CFA)-geïnduceerde model. De validiteit van dit model als preklinisch model voor MS is aangetoond met behulp van een monoclonaal antilichaam tegen een specifieke merker van B lymfocyten. Toediening van het antilichaam had vergelijkbare effecten in het EAE model als in MS, namelijk een snelle depletie van B lymfocyten uit het perifeer bloed en lymfoide organen en een robuuste onderdrukking van de ziekte. De pathologische veranderingen in het centraal zenuwstelsel zijn in detail onderzocht met behulp van magnetische resonantie imaging (MRI) en histologie. Zowel klinisch als pathologisch lijkt het model zeer sterk op MS. Door ontwikkeling van micro-technieken voor immunomonitoring kan meer longitudinale informatie uit minder dieren worden verzameld. In het afgelopen jaar is een breed panel van kwantitatieve PCR assays ontwikkeld voor cytokines die van belang zijn in de pathogenese van MS om zo meer data uit minder dieren te kunnen verkrijgen. Gedetailleerde immunologische analyse met behulp van deze technieken toonde aan dat lesievorming in het centraal zenuwstelsel en de inductie van neurologische schade wordt veroorzaakt door andere immunopathogene mechanismes dan in klassieke EAE modellen in muizen en ratten. Verder onderzoek in de komende jaren zal uitwijzen of ons vermoeden dat het nieuwe model representatief is voor progressieve MS juist is.

Een tweede belangrijke ontwikkeling is het verfijnen van een model voor de ziekte van Parkinson in marmosets. De ziekte van Parkinson is een chronisch progressieve aandoening van het centraal zenuwstelsel dat zich o.a. kenmerkt door motorische verstoringen. Vanwege het toenemend belang van onderzoek naar neurodegeneratie, in verband met de toenemende incidentie van verouderingsgerelateerde aandoeningen in de vergrijzende samenleving, is binnen BPRC het MPTP-geïnduceerde model in de marmosetaap voor de ziekte van Parkinson opgezet. Het betreft een subacuut inductie-protocol met apoptotische lesies in dopaminerge neuronen binnen het hersencircuit waar de bewegingen gecoördineerd worden. Door dit model is het mogelijk om nieuwe therapieën en behandelingen tegen neurodegeneratie te onderzoeken. Aangezien de huidige strategieën nog steeds gericht zijn op het onderdrukken van symptomen maar het degeneratieve proces niet stoppen, is het van belang ons te richten op interventies op het niveau van bescherming van het zenuwstelsel met als doel de kwaliteit van leven van de patienten te verbeteren. Om het effect op de progressie van de ziekte te kunnen meten zijn gedragsopstellingen opgezet en verder ontwikkeld om motorisch-gerelateerde effecten zoals activiteit, hand-oogcoördinatie, reflexen, springgedrag, maar ook cognitie op een niet-invasieve manier in tijd te kunnen meten. Deze gedragstestopstellingen dragen bij aan de verfijning van de meetmethodes binnen onze ziektemodellen.

Een derde belangrijke ontwikkeling is een model voor reumatoïde arthritis in marmosets. In tegenstelling tot het acute collagen-geïnduceerd arthritis model in resusapen, ontwikkelen marmosets een veel minder heftig en meer chronisch verlopend ziektebeeld. Het marmoset model is in 2 opzichten een verfijning. Vanwege de mindere gevoeligheid van marmosets voor de mycobacteria in het gebruikte compleet Freund's adjuvant, treden er minder ernstige huid lesies op dan in resusapen. Bovendien kunnen door het gebruik van tweelingen, die immunologisch beter vergelijkbaar zijn dan niet verwante aapjes (zoals in resusapen), kleinere experimentele groepen worden gebruikt.

In 2010 heeft de afdeling **Virologie** verder geïnvesteerd in het ontwikkelen van nieuwe *in vitro* testen, om zodoende meer gedetailleerde informatie te verkrijgen omtrent de werking en effectiviteit van nieuwe vaccin-preparaten. Daarnaast is gewerkt aan het verfijnen van bepaalde meettechnieken. Hierdoor kan meer informatie verkregen worden uit biologische materialen verkregen uit de proefdieren. Zo is dit jaar de B-cel Elispot assay routinematig toegepast op cellen verkregen van resusapen die in verschillende HIV vaccinatie studies zaten. Bovendien zijn technieken gestandaardiseerd om bipten te verzamelen uit de hogere compartimenten van het maag-darm stelsel zonder dat de dieren een operatie hoeven te ondergaan. Dit laatste is een duidelijk voorbeeld van verfijning doordat er minder invasieve ingrepen dan wel handelingen nodig zijn om toch essentiële biologische materialen te verzamelen. Verder is er een *in vitro* model opgezet om de functie van Antigeen Presenterende Cellen te bestuderen. Deze Antigeen Presenterende Cellen zijn essentieel voor het maken van een afweer respons en goede activatie van deze cellen is nodig voor elk vaccin. In dit model kan de activerende werking van diverse vaccins vergeleken worden om daarna de beste vorm te selecteren voor gebruik in vaccinatie studies tegen infectie ziektes. Hierdoor kan in toekomstige vaccin studies het aantal apen verminderd worden.

Het door de afdeling **Parasitologie** nieuw ontwikkelde *in vitro* kweekstelsel van de malaria parasiet (*P. cynomolgi*) lever stadia is in 2010 verder geperfectioneerd. We gebruiken dit stelsel om slapende lever stadia van de parasiet te bestuderen en om *in vitro* potentiële geneesmiddelen te testen op activiteit, iets wat hiervoor alleen in besmette apen kon gebeuren. We hebben het ongerief voor de resusapen die dienst doen als parasiet donor (ex vivo worden malaria muggen gevoed op met *P. cynomolgi* besmet bloed) verder verlaagd door nog maar op twee tijdstippen bloed af te nemen voor de muggen voedingen. Om op termijn het aantal resusapen dat nu nodig is voor de infectie van malaria muggen te verminderen, is verder gegaan met een programma om malariaparasieten die uit de mug worden geïsoleerd en worden gebruikt voor de infectie van levercellen in te vriezen. Hier is nog meer onderzoek nodig voordat dit toepasbaar is. In 2010 is tevens een subsidie aangevraagd en verkregen om een *in vitro* kweek te ontwikkelen voor bloedstadia van de humane malaria parasiet *P. vivax*. Mede omdat deze parasiet uitsluitend hele jonge rode bloedcellen (reticulocyten) infecteert is dit tot nu toe niet mogelijk. De enige bronnen voor parasieten voor onderzoek naar geneesmiddelen en vaccins zijn geïnfecteerde mensen en Aotus of Saimiri apen. Een *in vitro* kweek zal onderzoek naar deze parasiet veel gemakkelijker maken en het gebruik van apen verminderen. De werkzaamheden zullen in 2011 gestart worden.

Binnen het tuberculose (TB) onderzoek hebben wij vroege klinische correlaten (indicatoren) geïdentificeerd die voorspellend zijn voor de ontwikkeling van ernstige fulminante ziekte in een later stadium na experimentele *M. tuberculosis* infectie. Middels prospectief onderzoek en met gebruik van ingevroren sera van eerdere tuberculose infectiestudies hebben wij deze voorspellende indicatoren kunnen valideren. Deze indicatoren zijn kwantitatieve TB ziekteparameters die bij herhaalde meting in de tijd bijdragen aan een grotere statistische 'power' van dergelijke NHP experimenten, die harmonisatie en vergelijkbaarheid van multi-centre studies bevorderen, en die middels vroege readout van acute, ernstige ziekte bijdragen aan een verfijning van dit experimentele diemodel.

Uitgelicht: Promotieonderzoek aan Alternatieven

Naast het gecentraliseerde onderzoek aan Alternatieven dat binnen het BPRC is ondergebracht in de Unit Alternatieven, is instituutsbreed het onderzoek naar alternatieven van een belangrijke impuls voorzien door binnen iedere onderzoeksafdeling één promovendus (Assistent in Opleiding, AiO) aan te stellen met de expliciete opdracht om met alternatieve methodieken of aan de ontwikkeling van alternatieven te werken. In dit jaarverslag doen zij verslag van hun onderzoeksresultaten.

Als **AiO van de Unit Alternatieven** van het BPRC houd ik mij bezig met het onderzoeken van mechanismen waarop de activatie van microglia kan worden beïnvloed.

Microglia zijn cellen die zich in de hersenen bevinden en daar een belangrijke rol hebben bij de immunologische afweer. Bij ontstekingsreacties in het brein gericht tegen een virus of bacterie (maar ook bij aandoeningen als multiple sclerosis en de ziekte van Alzheimer's) raken microglia geactiveerd en spelen vervolgens een actieve rol in het ziekteproces.

De afdeling Alternatieven heeft als doel het verfijnen, verminderen en vervangen van dierproeven. Hiervoor heeft de afdeling verschillende celkweek systemen (*in vitro* technologie) opgezet welke bijvoorbeeld begonnen worden uit hersenenmateriaal van volwassen resus apen. Ondanks dat er ook menselijk donormateriaal te verkrijgen is voor wetenschappelijk onderzoek, is dit materiaal niet optimaal geschikt om onderzoek naar activatie van microglia te doen. Naast het feit dat menselijke donoren vaak zelf (a) aan een neurologische aandoening leiden, leidt (b) het stervensproces en (c) de periode tussen overlijden en uitnemen van het hersenmateriaal tot een oncontroleerbare staat van activatie van de microglia. Microglia verkregen uit knaagdieren verschillen daarentegen zoveel van menselijke microglia, met name op het gebied van de aangeboren immuniteit, dat ook die niet een goed modelsysteem vormen voor menselijke microglia. De kweken die wij opzetten vanuit volwassen resus apen zijn dat wel. Naast microglia en andere uit hersenweefsel verkregen cellen, zijn wij in staat om ook uit ander donormateriaal (zoals beenmerg en bloed) verschillende immunologisch belangrijke cel typen te kweken. Deze celkweken worden vervolgens ingezet als model voor humane vraagstukken. Hiernaast worden de celkweken ook ingezet in een *pre-in vivo* fase van nieuwe teststoffen. *In vitro* experimenten waaruit bleek dat bepaalde teststoffen zeer waarschijnlijk niet actief zouden zijn in het dier hebben al direct geleid tot een vermindering van het aantal dieren in voorgenomen *in vivo* experimenten. Van belang voor al onze primaire celkweek experimenten is dat hiervoor nooit dieren specifiek geofferd worden. Het weefsel komt beschikbaar van dieren die vanwege beëindiging van andere biomedische experimenten of vanwege ouderdom ge-euthanseerd moeten worden. Op deze manier wordt zo goed mogelijk gebruik gemaakt van het dier dat wordt geofferd.

Mijn onderzoek heeft zich voornamelijk gericht op bestudering en beïnvloeding van de aangeboren immuunresponsen in het brein door middel van genoemde microglia kweken. Ik heb daarbij gekeken naar de invloed van bepaalde type medicijnen op de activatie van microglia en naar de invloed van stoffen die het brein zelf maakt. Daarnaast heb ik ook een compleet nieuw mechanisme van activatie beïnvloeding middels adenosine receptoren blootgelegd. Een gedeelte van mijn onderzoek is gepubliceerd in wetenschappelijke tijdschriften en heeft al geleid tot vervolgonderzoek en tot identificatie van nieuwe therapeutische doelen voor de behandeling van neurologische aandoeningen, zonder dat daar dierproeven voor nodig zijn geweest.

Als **AiO van de afdeling Animal Science-Ethologie** houd ik mij bezig met het bestuderen van het gedrag van de verschillende apensoorten die op het BPRC gehuisvest zijn.

Kennis van de sociale interacties die apen onderling en met hun omgeving hebben kan gebruikt worden om huisvesting en verzorging van de dieren aan te passen aan hun eisen en zo hun welzijn te bevorderen. Verder is het bestuderen van het gedrag van apen van belang omdat het enerzijds inzicht geeft in het gedrag van de apen op zich en anderzijds in de principes waarop het menselijk gedrag is gebaseerd.

Een aantal van de sociale groepen Java- en resusapen die op het BPRC gehuisvest zijn hebben meerdere volwassen mannen per groep. Vooral wanneer er 1 of meerdere vrouwen vruchtbaar zijn houdt de alfaman de vrouwen goed in de gaten en verjaagt hij alle lagere mannen die proberen te paren. Desondanks zijn de lagere mannen verantwoordelijk voor 25% (Java-apen) tot 75% (resusapen) van de nakomelingen. Waarschijnlijk paren ze stiekem als de alfaman niet kijkt. Eén van mijn onderzoeksvragen was of de mannetjes die lager in de sociale hiërarchie staan en de vrouwen zich iets aantrekken van hogere mannen die hen kunnen zien wanneer ze met elkaar willen paren. Dit is onderzocht in een groep Java- en een groep resusapen waarvan de buiten en binnenverblijven tijdelijk visueel gescheiden waren. Uit het onderzoek bleek dat de lagere dieren bijna uitsluitend buiten paren wanneer de alfaman binnen zit en vice versa.

Daarnaast doe ik onderzoek naar de cognitieve vaardigheden van de apen. Hoewel uit bovenstaande is gebleken dat de apen hun paargedrag weten te verbergen voor de alfaman, is het niet duidelijk of ze daadwerkelijk begrijpen wat de alfaman wel en niet kan zien, of dat ze zich een simpelere methode hebben aangeleerd. Door middel van een experiment waarin ik de apen foto's van elkaar laat zien onderzoek ik of de dieren begrijpen waar een ander individu naar kijkt. De apen moeten hiervoor individueel naar foto's kijken, en om de stress van het separeren van de apen te verminderen zijn de apen van te voren getraind door middel van positieve stimulatie. De apen doen alleen mee als ze vrijwillig de test ruimte in lopen, waarvoor ze worden beloond. Meedoen aan de test is dan ook een vorm van "verrijking". Uit de eerste resultaten lijkt het er op dat de apen begrijpen waar hun soortgenoten hun aandacht op gericht hebben, maar om hier met zekerheid iets over te kunnen zeggen worden nu een aantal gegevens verder uitgewerkt.

Het is dus mogelijk dat apen zich verbergen voor hun soortgenoten doordat ze weten waar

ze onzichtbaar zijn voor bepaalde individuen. Voor de apen is deze vaardigheid niet alleen belangrijk in de context van seksueel gedrag, maar ook voor het reduceren van conflicten en voor het krijgen van voedsel in aanwezigheid van dominante dieren. Bij het inrichten van de kooien en het aanbieden van voedsel aan de dieren zou men er dus rekening mee kunnen houden dat er niet alleen genoeg ruimte en doorzichtige barrières zijn (nu zijn veel barrières van gaas), maar dat er ook visuele barrières zijn, waar de apen gebruik van kunnen maken. Aan de andere kant, moeten er ook genoeg mogelijkheden blijven voor de apen om hun groepsleden te kunnen blijven zien, omdat de aanblik van een (dominant) dier agressieve benaderingen van groepsleden kan inhiberen. Een goede balans tussen doorzichtige en ondoorzichtige barrières is dus van belang voor het welzijn van een sociaal gehuisveste apen groep.

Als **AiO van de afdeling Vergelijkende Genetica en Verfijning** doe ik onderzoek naar de verschillen en overeenkomsten die er zijn tussen de genen van de mens en de resusaap.

Inmiddels zijn er in de mens meer dan 23.000 genen bekend, en van een aantal is ontdekt dat ze een prominente rol spelen in het immuunsysteem. Vanuit biomedisch oogpunt zijn dit relevante kandidaten om vergelijkend genetisch onderzoek naar te doen. In het kader van dit project breng ik de verschillende ‘killer cell immunoglobulin-like receptor’ (KIR) genen van de resusmakaak in kaart. Deze genfamilie is een voorbeeld van een groep immuunogenen die recent gevormd is tijdens de evolutie van primaten. Daarom is deze uitsluitend in apen goed te bestuderen, want in andere zoogdieren, bijvoorbeeld de muis, is er geen sprake van een dergelijke KIR-genfamilie. De KIR-eiwitten komen voor op gespecialiseerde witte bloedcellen, de zogenaamde ‘natural killer’ (NK) cellen, die onder andere betrokken zijn bij afweerreacties tegen virussen en kanker, immuunreacties, en een belangrijke rol spelen tijdens de zwangerschap. We weten inmiddels ook dat de activiteit van NK cellen per persoon verschillend is en ondermeer bepaald wordt door de combinatie van KIR-genen die hij of zij bezit. In de mens kenmerkt het KIR-gensysteem zich namelijk door variatie in het aantal genkopieën (diversiteit) en door de vele mutaties (polymorfisme) die deze genen bevatten.

Eén van mijn fundamentele onderzoeksvragen is dan ook hoe dit KIR-gensysteem eruit ziet in de resusaap en wat de overeenkomsten en verschillen zijn met dat van de mens. Om een zo’n goed mogelijk idee te krijgen over de natuurlijke variatie, onderzoek ik de genen van meerdere verwante en onverwante dieren. Zo krijg ik een breed overzicht welke genen samen worden overgeërfd en wat de diversiteit is binnen een populatie van dieren.

Voor het in kaart brengen van de genetische code van de KIR genen, gebruik ik voornamelijk DNA. In het laboratorium isoleer ik dit DNA uit een kleine hoeveelheid witte bloedcellen. Om stress en ongerief voor de dieren tot een minimum te beperken worden deze cellen op hun beurt weer verkregen uit een minimale hoeveelheid bloed dat wordt afgenomen tijdens reguliere gezondheidscontroles. Mocht ik na een analyse nog DNA overhouden, dan sla ik dit op in een speciale DNA-bank, zodat deze in het vervolg als referentie gebruikt kan worden. Bovendien

heb ik met de verkregen bloedcellen speciale cellijnen opgezet, zodat ik hier eventueel 'vers' DNA uit kan verkrijgen. Zo kan ik – waar mogelijk – het gebruik van vers bloed vervangen door gebruik te maken van DNA uit opslag of uit cellijnen.

Voor de mens geldt dat als een individu specifieke combinaties van KIR met andere immuungenen bezit, deze persoon minder vatbaar is voor virale infecties, zoals met het HIV of hepatitis C virus. Het is heel goed mogelijk dat soortgelijke effecten ook plaatsvinden in resusapen en van invloed zijn op de interpretatie van biomedisch onderzoek. Doordat ik het KIR-systeem van de mens en andere apen vergelijk, kan ik onderzoeken in hoeverre soort-specieke evolutie een rol heeft gespeeld bij de vorming van dit gensysteem. Aan de hand van genetische analyses kan ik herleiden welke vormen van selectie tijdens evolutie plaats hebben gevonden en welke factoren mogelijk een rol hebben gespeeld als selectiedruk. Door deze achterliggende processen beter te begrijpen kan ik zo ook een duidelijker beeld vormen over de functie die dit systeem nu heeft in beide diersoorten.

Mijn onderzoek draagt op verschillende manieren bij aan implementatie van de 3 V's; allereerst door meer inzicht te geven over de structuur van de KIR-genfamilie in de resusmakaak. Doordat resusapen namelijk genetisch goed gekarakteriseerd zijn – in bijzonder wat betreft hun immuungenen – kan door goede selectie van groepen inteelt binnen de kolonie voorkomen worden. Bovendien kunnen onderzoekers een overwogen keuze maken welke dieren in een experiment passen. Zo kunnen groepen dieren samengesteld worden op basis van specifieke combinaties van immuungenen, of juist op een zo groot mogelijke diversiteit die beter overeenkomt met de situatie zoals deze in mensen is. Op deze manier wordt specifiek onderzoek verfijnd en leidt dit mogelijk tot een vermindering van het aantal dieren dat hiervoor noodzakelijk is. Op dit moment is een gedeelte van mijn onderzoek gepubliceerd als wetenschappelijke artikelen in vakbladen en wordt het ter verfijning van experimenten nu al aangehaald en geïmplementeerd door verschillende onderzoeksgroepen in Europa en Amerika.

Als **AiO van de afdeling Immunobiologie** onderzoek ik of het diermodel voor multiple sclerose (MS) in een penseelaap verder verfijnd kan worden.

MS is een ziekte die wordt gekenmerkt door onder andere slecht zien, coördinatieverlies en verlammingen van de ledematen. Men denkt dat MS een auto-immuunziekte is, waarbij het immuunsysteem reageert op het eigen lichaam, in dit geval op componenten van de myelineschede. Om de oorzaak en het verloop van MS in detail te bestuderen, wordt de ziekte in diermodellen nagebootst. Vaak gebeurt dit in muizen en ratten. Op het BPRC worden daarvoor non-humane primaten gebruikt, zoals de penseelaap (*Callithrix jacchus*). Penseelapen lijken immunologisch en genetisch veel op de mens en dit maakt het model geschikt voor de validatie van nieuwe therapieën voor MS. Bovendien komt ook het ziekteverloop bij de penseelaap sterk overeen met MS.

Het nabootsen van MS in dieren gebeurt door het opwekken van immuunreacties tegen myeline, de isolerende laag rond zenuwuitlopers in hersenen en ruggenmerg. Hiervoor wordt bijvoorbeeld myeline uit MS patiënten gemixt met een adjuvant en in de huid geïnjecteerd. Het gebruik van een adjuvant heeft als doel om zowel de aard als de sterkte van de immuunrespons tegen het eigen lichaam te versterken, zodat dit uiteindelijk resulteert in een ziekte die lijkt op MS. In veel diersmodellen, en ook in penseelapen, wordt als adjuvant compleet Freund's adjuvant (CFA) gebruikt. Dit is een minerale olie gemixt met dode bacteriën. Naast het gebruik van CFA worden er soms ook hitte-geïnactiveerde Bordetella pertussis bacteriën in de bloedbaan toegediend om op die manier tijdelijk de bloed-hersenenbarrière te openen.

Buiten het ongerief dat de ziekte de dieren bezorgt, veroorzaakt de methode om de ziekte op te wekken zelf ook al ernstig ongerief. Meest vervelend is dat zich op de immunisatieplekken als bijwerking zwellingen en ontstekingen in de huid, zogenaamde granulomas, kunnen vormen. Het doel van mijn project is om het model te Verfijnen en daarmee het ongerief voor de dieren te verminderen.

We hebben allereerst aangetoond dat vervanging van myeline uit MS patiënten met een enkel eiwit (MOG; myeline oligodendrocyten glycoproteïne) afkomstig uit myeline ook werkte. Vervolgens hebben we aangetoond dat immunisatie met een synthetisch peptide in CFA zonder toevoeging van Bordetella pertussis ook tot ziekteontwikkeling leidt, maar dan in een chronische vorm. Dit is ook de vorm die bij MS patiënten het meest wordt waargenomen. Als laatste hebben we gevonden dat het ook mogelijk is om ziekte in de penseelaap op te wekken dmv immunisatie met het synthetisch peptide in incompleet Freund's adjuvant (IFA). IFA bevat alleen de minerale olie en geen mycobacteriën, en geeft aanmerkelijk minder bijwerkingen dan CFA.

Vervanging van CFA door IFA is een aanzienlijke Verfijning en heeft geresulteerd in een ziektemodel met veel minder ongerief voor het dier, te weten alleen huidirritatie in plaats van granulomas op de plaats van immunisatie. Tevens lijkt het erop dat de ziekte-incidentie in het model is toegenomen hetgeen betekent dat experimenten met minder dieren uitgevoerd kunnen worden (vermindering). De verfijning heeft ook belangrijke consequenties voor de toepassing van het model als preklinisch testsysteem voor nieuwe therapieën gebaseerd op biologische moleculen, zoals monoklonale antistoffen. Deze antistoffen worden ontwikkeld voor de mens en kunnen door hun hoge specificiteit niet in lagere diersoorten (muizen en ratten) worden getest. In het klassiek diersmodel voor MS met CFA wordt de aanmaak van neutraliserende antistoffen sterk gestimuleerd, waardoor de werking van het te testen antistof teniet kan worden gedaan. In het recent ontwikkelde model met IFA wordt deze complicatie vermeden. In de toekomst hopen we dit model nog verder te verfijnen en te kunnen gebruiken voor het testen van nieuwe therapeutische middelen voor MS.

Als **AiO van de afdeling Virologie** doe ik onderzoek naar de –deels- beschermende immuun mechanismen tijdens infectie met het hepatitis C virus (HCV).

Wereldwijd zijn naar schatting 170 miljoen mensen chronisch drager van het hepatitis C virus (HCV) en is er sprake van 8000 nieuwe infecties per dag. Infectie met HCV is te bestrijden met anti-virale middelen, maar deze behandeling is slechts effectief in ca. de helft van de gevallen. Een HCV vaccin zou daarom een enorme verbetering zijn maar is, in tegenstelling tot vaccins die tegen hepatitis A en B beschermen, nog niet voorhanden.

Het onderzoek naar een vaccin wordt bemoeilijkt doordat de immuun-mechanismen die nodig zijn voor een succesvolle therapie nog steeds niet bekend zijn maar ook doordat naast mensen, alleen chimpansees bevattelijk zijn voor HCV. In het verleden is daarom een beperkt aantal chimpansees gebruikt om de efficiëntie van verschillende vaccinkandidaten te evalueren. Hoewel geen van de tot nu toe geteste vaccinkandidaten 100% bescherming wist te bieden tegen HCV infectie, bleek het wel mogelijk chimpansees in sommige gevallen gedeeltelijk te beschermen. Bijvoorbeeld doordat een vaccin de hoeveelheid virus in het bloed sterk wist te verlagen of chimpansees wist te beschermen tegen chronische infectie.

In het kader van de 3Vs (vervanging, vermindering en verfijning) werkt de afdeling Virologie aan “meer data uit minder dieren”. Binnen dit programma wordt retrospectief onderzoek gedaan naar HCV-specifieke immuun mechanismen in chimpansees die in het verleden gebruikt zijn in HCV studies. Bloedproducten die destijds zijn opgeslagen kunnen geanalyseerd worden met de huidige technieken, die ten tijde van het oorspronkelijke onderzoek nog niet voorhanden waren. Zo was het in het jaar 2000 technisch niet mogelijk om neutraliserende antilichamen voor HCV te bepalen. Hierdoor kon destijds geen conclusie worden verbonden worden aan een uitgevoerde studie. In die studie waren vier chimpansees gevaccineerd tegen HCV. In alle gevaccineerde dieren werden toendertijd antilichamen gevonden maar we konden geen antwoord geven op de vraag waarom in twee chimpansees de antilichamen wel beschermend leken te werken maar in de twee andere chimpansees niet. Toen we er recentelijk, in samenwerking met een groep van de universiteit in Lyon, in slaagden neutraliserende antilichamen aan te tonen bleek dat de antilichamen in de twee beschermde chimpansees neutraliserende activiteit hadden terwijl dit niet het geval was in de twee andere chimpansees. De neutraliserende antilichamen werden gevonden in chimpansees die met het E1-enveloppe-eiwit van HCV waren gevaccineerd en niet in de chimpansees die met E2-enveloppe-eiwit waren gevaccineerd. De huidige conclusie van de studie is dat vaccinatie met E1 bescherming tegen het virus kan bieden. Dit is opmerkelijk omdat men voorheen dacht dat alleen antilichamen gericht tegen E2 bescherming konden bieden. Deze vinding kan een belangrijke rol spelen in de verdere ontwikkeling van nieuwe en betere vaccin kandidaten.

Deelname gremia

Naast het inpassen van de **3V's** binnen de eigen organisatie participeert het BPRC ook in verschillende (inter)nationale gremia die zich bezighouden met proefdiergebruik. BPRC diervverzorgers, dierenartsen en ethologen nemen actief deel aan verschillende (inter)nationale meetings en congressen waarbij ervaringen met vakgenoten uitgewisseld worden en zijn actief betrokken bij organisaties zoals de Biotechnische Vereniging, de Nederlandse Vereniging voor Proefdierkunde, en Europese Vereniging voor dierenartsen (European Primate Veterinarians). Door het uitwisselen van ervaringen met vakgenoten kunnen methoden en protocollen van verschillende instituten op het gebied van voeding, huisvesting en verzorging gestandaardiseerd worden en wordt een belangrijke bijdrage geleverd aan de 3Vs.

Verder heeft de secretaris van de DEC van het BPRC zitting in het bestuur van de overkoepelende organisatie van DEC's in Nederland: de NV-DEC. Deze organisatie zet zich vooral in voor scholing en bijscholing van DEC leden.

Het BPRC biedt studenten de mogelijkheid om hun (afstudeer)stage op het BPRC uit te voeren. Studenten van VMBO, MBO, HBO en Universiteiten maken hiervan veelvuldig gebruik. Verder worden er regelmatig rondleidingen verzorgd aan geïnteresseerden, zoals scholieren en studenten. Het afgelopen jaar hebben ongeveer 500 mensen van deze mogelijkheid gebruik gemaakt. Daarnaast verschaft het BPRC op verzoek informatie aan de Stichting Informatie Dierproeven (www.stichtinginformatiedierproeven.nl), levert het sprekers voor debatten over proefdiergebruik, en is het afdelingshoofd van de Unit Alternatieven sinds 2010 lid van de redactieraad die de brochure "Dierproeven: Zo doen ze dat!" op inhoud toetst.

Internationaal heeft het BPRC een actieve rol in de initiatieven die georganiseerd worden door het UK National Centre for 3Rs (NC3Rs: www.nc3rs.org.uk) om het gebruik van alternatieven te stimuleren (Expert working group 'Non-human primates in monoclonal antibody studies').

