

VERTROUWELIJK



**JAARVERSLAG
DIEREXPERIMENTENCOMMISSIE
SANQUIN
2004**

Secretaris DEC Sanquin

Index

Onderwerp:	bladzijde:
1. Algemeen	3
2. Samenstelling DEC-commissie	4
3. Aantal vergaderingen	4
4. Toetsing dierexperimenteel onderzoek	5
5. Knelpunten	20
6. Opheffing DEC-Sanquin	20

1. Algemeen

De DEC van Sanquin is erkend door de minister van VWS per 11 augustus 1997. De DEC adviseert alleen de eigen vergunninghouder, te weten de stichting Sanquin Bloedvoorziening.

Bij het toetsen van aangemeld onderzoek werd de procedure gevolgd die de afgelopen jaren ontwikkeld werd. Projecten met standaard proefdieronderzoek lopen meestal over meerdere jaren. Om een goed inzicht te krijgen in de samenhang tussen verschillende dierproeven moeten deze per project aangemeld worden. De Geldigheidstermijn DEC-protocol van standaardonderzoek is 4 jaar. De Geldigheidstermijn DEC-protocol voor overig onderzoek wordt per project bekeken. De maximale termijn waarvoor toestemming verleend kan worden is eveneens 4 jaar.

De DEC-protocollen kunnen eventueel door de Kleine Commissie worden beoordeeld mits het ongerief niet hoger is dan code 3 (matig) of hetzelfde onderzoeksplan reeds bij eerdere aanmelding door de voltallige DEC van een positief advies is voorzien. De Kleine Commissie komt niet als zodanig bij elkaar. Het protocol wordt rondgestuurd en elk lid van deze commissie plaatst zijn opmerkingen betreffende het onderzoek op het aanmeldingsformulier. Indien het toch wenselijk is om met elkaar te discussiëren, wordt op ad hoc basis een afspraak gemaakt. Gedurende het verslagjaar werden er geen protocollen door de kleine commissie beoordeeld.

DEC-protocollen betreffende een pilotstudie behoeven alleen de goedkeuring van het Hoofd PDH. Voor een pilotstudie gelden een aantal beperkingen die door de DEC zijn vastgesteld. De inschatting van het ongerief mag maximaal 3 (matig) zijn. Tevens mag het onderzoek voor de aangegeven vraagstelling slechts 1 keer uitgevoerd worden, de tijdsduur van het onderzoek mag niet langer zijn dan 3 maanden en het aantal dieren is beperkt tot 20. De DEC ontvangt de eerstvolgende vergadering het protocol ter kennisgeving. Gedurende het verslagjaar werden er geen pilotstudies aangevraagd en dus beoordeeld.

Alle aanmeldingen die niet aan bovenstaande criteria voldoen worden door de voltallige DEC beoordeeld, waarna advies aan de vergunninghouder gegeven wordt.

Indien de DEC-Sanquin dit wenselijk acht, wordt de artikel-9 functionaris uitgenodigd om nadere uitleg te geven tijdens de DEC-vergadering bij de bespreking van het desbetreffende project. Dit heeft ook bij herhaling plaatsgevonden.

2. Samenstelling DEC-commissie

De samenstelling van de DEC is erkend in 2001 en is gedurende het verslagjaar ongewijzigd gebleven.

<i>Leden</i>	<i>Dienstverband met de vergunninghouder</i>	<i>Betrokken bij dierproeven</i>	<i>Deskundigheid op het gebied van:</i>
1. Voorzitter	Nee	Nee	Ethische toetsing
2. Vice-voorzitter	Ja	Ja	Alternatieven
3. Secretaris	Ja	Ja	Proefdieren en alternatieven
4. Lid	Nee	Nee	Proefdieren
5. Lid	Nee	Nee	Dierproeven
6. Lid	Ja	Nee	Proefdieren.
7. Lid	Ja	Ja	Dierproeven.
Toehoorder: art-14 functionaris i.o. *	Ja	Nee	nvt

* met ondersteuning van de proefdierdeskundige NKI

Tevens is er een kleine commissie bestaande uit de vice-voorzitter, de secretaris en de artikel 14 functionaris.

3. Aantal vergaderingen

De Dierexperimentencommissie hield in 2004 vijf plenaire bijeenkomsten waarin aanmeldingen voor proefdieronderzoek getoetst werden. Daarnaast werd problematiek van uiteenlopende aard betreffende proefdieronderzoek, relevante regelgeving en welzijnsaspecten besproken.

4. Toetsing dierexperimenteel onderzoek

De volgende protocollen werden tijdens het verslagjaar beoordeeld:

Protocol nr.	Beschrijving proefopzet, opmerkingen/toelichtingen en DEC advies
2004.001	Titel: Strategieën voor het bevorderen van beenmergherstel en stamceltransplantatie. Inhoud: Bij beenmergtransplantaties zijn door conditionering (bestraling en chemotherapie) de maligne en gezonde hematopoietische cellen uitgeschakeld, maar ook de omgeving van de hematopoietische cellen in het beenmerg, o.a. de stromale cellen en voorlopers zijn aangetast. De stromale cellen vinden hun oorsprong in de mesenchymale stamcellen (MSC). MSC dragen zorg voor de aanmaak, herstel en handhaving van alle cellen van skeletweefsel en steunweefsel in organen (zo ook stromale cellen). Het is gebleken dat na beenmergtransplantatie de MSC van de donor niet terug te vinden zijn in het beenmerg. Dit kan zijn omdat de frequentie in het transplantaat te laag is. Een oplossing zou kunnen zijn om de cellen in vitro te expanderen om een grotere hoeveelheid te kunnen transplanteren. Echter, het kweken van deze cellen resulteert in een migratiedefect zodat na intraveneuze transplantatie deze cellen nauwelijks terug te vinden zijn in het beenmerg. Wanneer de cellen direct in het beenmerg gespoten worden, wordt het migratieprobleem omzeild. Toelichting onderzoeker: Dit onderzoek is een vervolg op een onderzoek uit Leiden waar de aanvragende onderzoeker nauw bij betrokken was. In dit onderzoek werd aangetoond dat in diermodellen de co-transplantatie van MCS die intraveneus werden toegediend het beenmergherstel van hematopoietische cellen bevordert. Voor de klinische toepassing betekent dit dat het gebruik van met name navelstrengbloedtransplantaties, waarbij sprake is van kleine transplantaten, vergroot kan worden en hierdoor een mogelijkheid is voor behandeling. Met dit onderzoek zal duidelijk moeten worden of het intrabone injecteren een bevorderend effect zal hebben op beenmergherstel van hematopoietische stamcellen. Het verbeteren van de kwaliteit van het stroma door het direct injecteren in het beenmerg van MSC zal een therapie kunnen zijn voor een aantal aandoeningen, b.v. osteogenesis imperfecta. Een studie in dit muizenmodel is van therapeutisch belang in het kader van het mechanisme voor het aanslaan van het transplantaat. Vragen art. 14 functionaris: In paragraaf 4.6 wordt vermeld dat als gevolg van de sub-lethale bestraling de dieren mogelijk ernstig ziek worden. Worden er dieren gebruikt die microbiëel gezien een conventionele status hebben en kunnen de dieren hierdoor ziek worden? Wordt bij zieke dieren op sepsis gecontroleerd? Antwoord onderzoeker: De dieren hebben allen een SPF status. In het verleden zijn een drietal dieren opgeofferd voor volledig microbiologisch en histo-pathologisch onderzoek. Hierbij werd geen sepsis (of andere microbiële infecties) vastgesteld. De inschatting dat de dieren ernstig ziek kunnen worden, is gebaseerd op eerdere ervaringen binnen ons instituut en andere instellingen en is een direct gevolg van de gegeven bestralingsdosis. Vragen DEC: In de proefopzet wordt aangegeven dat de dieren genarcotiseerd worden met Halothaan/lachgas of een injecteerbaar anestheticum tijdens de

Protocol nr.	Beschrijving proefopzet, opmerkingen/toelichtingen en DEC advies
Vervolg 2004.001	intrabonale injectie. Waarom worden deze twee manieren van narcotiseren naast elkaar genoemd? Hoe is de inschatting van het ongerief tot stand gekomen en is er voldoende rekening gehouden met het ongerief van de intrabonale injectie? Antwoord onderzoeker: Er is binnen het instituut geen tot weinig ervaring met de intrabonale injectie. Daarom kan de onderzoeker nog niet exact aangeven welke anesthesie methode het meest adequaat is. In overleg met het AMC, waar deze techniek vaker wordt uitgevoerd, zal worden bepaald welk narcosemiddel(-en) gebruikt zal worden. De inschatting van het ongerief is vooral gebaseerd op de sublethale bestraling aangezien deze techniek het meest belastend is voor het dier. <i>Duur proef: afhankelijk van onderdeel 24 uur, 48 uur, 1 week, 6 weken of 13 weken</i> <i>Geldigheidstermijn DEC-protocol: 18 maanden</i> <i>Aantal dieren: 176 muizen.</i> <i>Ongerief: 4 (matig/ernstig) door sublethale bestraling.</i> <i>Doel proef: 37 (andere wetenschappelijke vraag).</i> Advies DEC: Positief advies
2004.002	<i>Titel: Het verkrijgen van normaal cavia-, muizen-, ratten- en konijnenserum ten behoeve van laboratoriumtesten ten behoeve van meerdere gebruikers.</i> <i>Inhoud: Het verkrijgen van dierlijk normaal serum is een noodzakelijk onderdeel (reagens) van de testuitvoering van sommige immunologische diagnostische testen.</i> Opmerking onderzoeker: Regelmatig zijn er onderzoekers die normaal serum nodig hebben als controle materiaal voor diagnostische testen. Tot op heden is de procedure dat de betreffende onderzoeker een DEC-protocol ingediend. Omdat dit een onnodige vertraging kan betekenen voor onderzoekers en de vraagstelling zeer algemeen is, is besloten om een algemeen protocol in te dienen waarvan verschillende onderzoekers gebruik kunnen maken. Het Hoofd PDH treedt als artikel 9 functionaris op en zal de wetenschappelijke kwaliteit van de betreffende aanvraag per geval beoordelen. Vragen art. 14 functionaris: Is er een maximum aan het aantal orbitapuncties per dier gesteld? Wordt de hartpunctie bij cavia's herhaaldelijk uitgevoerd en zo ja is er hierdoor uitval geconstateerd? Is er, in geval van uitval, sectie gepleegd om te kijken wat de effecten van de hartpunctie op het hart waren? Antwoorden onderzoeker: Er is geen maximum aan het aantal orbitapuncties per dier vermeld in het protocol en de onderzoeker acht het zeker zinvol de frequentie te limiteren. Het voorstel is om het aantal te maximaliseren tot 10 keer per dier per jaar. Voor een hartpunctie wordt een maximum van 5 keer per dier per jaar redelijk geacht. Beide aanpassingen zullen worden toegevoegd aan het DEC-protocol. Er is zelden of nooit uitval geconstateerd bij dieren vanwege het verrichten van (herhaalde) hartpuncties. In het PDH zitten een aantal cavia's welke meerdere jaren als regelmatig bloeddonor fungeren en zonder enige complicatie een hoge leeftijd bereiken, derhalve was er nooit een reden om sectie te verrichten. <i>Duur proef: minder dan één dag</i> <i>Geldigheidstermijn DEC-protocol: 4 jaar</i>

Protocol nr.	Beschrijving proefopzet, opmerkingen/toelichtingen en DEC advies
Vervolg 2004.002	Aantal dieren: 20 muizen, 20 ratten, 20 konijnen en 20 cavia's Ongerief: 3 (matig) door bijkomen uit narcose bij bloedafname Doel proef: 37 (andere wetenschappelijke vraag). Advies DEC: Positief advies
2004.003	Titel: Allo-immuun respons tegen rode bloedcel antigenen in muizen. Inhoud: Ondanks het succes van de anti-D immunoprophylaxe, waarbij een anti-D immuun respons door contact met rhesus D-positieve rode bloed cellen (RBC) b.v. d.m.v. transfusie/zwangerschap/bevalling wordt voorkomen m.b.v. het toedienen van anti-D Immunoglobuline G (IgG), is het werkingsmechanisme dat hierbij een rol speelt onbekend. Deze methode is in de humane geneeskunde ingevoerd op basis van een diemodel. Hierbij werden de muizen geïnfecteerd met schape RBC. Dit is echter geen goed bruikbaar diemodel omdat schape RBC binnen enkele uren geklaard worden, waarschijnlijk door natuurlijk voorkomende antistoffen. Het doel van dit onderzoek is het ontwikkelen van een adequaat muismodel om het werkingsmechanisme van anti-D immunoprophylaxe op te helderen. Hiervoor dienen eerst de volgende vragen beantwoord te worden: 1. Is er een allo-immuun respons van een muizenstam tegen de RBC van andere muizenstammen dan wel ratten? 2. Tegen welk RBC-antigeen is deze respons gericht? In dit experiment zal uitgezocht worden welke combinatie van muizenstammen of muis/rat als ontvanger/donor te gebruiken zijn voor het opzetten van het bovengenoemde muismodel. Vragen art. 14 functionaris: In de proefopzet staat aangegeven dat op dag 42 en dag 43 een bloedafname zal worden uitgevoerd. Waarom vindt er een afname op twee opeenvolgende dagen plaats? Er vindt elke week een bloedafname bij de dieren plaats met een maximum van 6 tot 7 keer. Is er gekeken naar de effecten op de dieren van deze herhaalde bloedafname en is er eventuele uitval hierdoor te verwachten? Opmerking DEC: De proefdierdeskundigen binnen de DEC verwachten geen extra uitval door de orbitapunctie indien deze wekelijks worden uitgevoerd, mits de uitvoering door een ervaren biotechnicus wordt gedaan en men bij de wekelijkse afnamen alternerend van oog wisselt. In het verleden zijn langlopende experimenten uitgevoerd met wekelijkse bloedafnamen d.m.v. orbitapunctie en dit heeft nooit tot extra uitval of overmatig ongerief geleid. Na enige inhoudelijke discussie met de onderzoeker vraagt de DEC zich af of het niet mogelijk is om de bloedafnames met een frequentie van 1 keer per twee weken uit te voeren zonder dat hiermee de doelstelling van het onderzoek wordt ondermijnd. Volgens deskundigen binnen de DEC zou voor het bepalen van een antistofrespons een frequentie van 1 keer per twee weken voldoende moeten zijn, waardoor de belasting van de dieren zal verminderen. In de proefopzet wordt aangegeven dat voor het verkrijgen van muizenbloed maximaal 4 muizen zullen worden gebruikt. In de tabel worden echter 3 muizen vermeld. Tevens vraagt de DEC zich af of het wel mogelijk is om HRBC meer dan 7 weken in een goede conditie te houden om als antigeen te fungeren. Antwoorden onderzoeker: De bloedafname zal alleen op dag 42 dienen te

Protocol nr.	Beschrijving proefopzet, opmerkingen/toelichtingen en DEC advies
Vervolg 2004.003	worden uitgevoerd. De vermelding van de bloedafname op dag 43 bleek een vergissing te zijn en zal in het DEC-protocol worden verwijderd. De onderzoeker heeft gekozen voor een bloedafname-frequentie van een keer per week omdat dit regime bij een andere afdeling binnen de organisatie wordt toegepast. De onderzoeker heeft geen concrete redenen waarom aanpassing van de frequentie niet haalbaar zou zijn en geeft aan zich nader over dit punt te zullen buigen. Indien er geen zwaarwegende argumenten zijn om de frequentie op een keer per week te houden, zal de frequentie in het DEC-protocol gewijzigd worden naar 1 keer per 2 weken. In overleg met de DEC is besloten om vier dieren te verbloeden omdat een minimum bloedvolume van 3 ml is vereist en drie dieren hiervoor mogelijk te weinig is. De onderzoeker zal het DEC-protocol dienovereenkomstig aanpassen. De onderzoeker laat weten dat HRBC gedurende 7 weken bewaard kan worden mits een specifieke bewaarvloeistof wordt gebruikt. <i>Duur proef: maximaal 65 dagen</i> <i>Geldigheidstermijn DEC-protocol: 1 jaar</i> <i>Aantal dieren: 32 muizen</i> <i>Ongerief: Bij 12 muizen 1 (gering door verbloeding en bij 20 muizen 3 (matig door bijkomen uit narcose bij bloedafname.</i> <i>Doel proef: 37 (andere wetenschappelijke vraag).</i> Advies DEC: <u>Positief advies onder voorwaarde dat de onderzoeker nog informatie inwint naar de mogelijkheid om de frequentie van de bloedafname terug te brengen naar 1 keer per 2 weken. Indien na het inwinnen van informatie blijkt dat de frequentie van de bloedafname niet terug gebracht kan worden, ziet de DEC geen bezwaar in het uitvoeren van de experimenten zoals omschreven, maar ziet dan wel graag een toelichting opgenomen in het protocol. Dit zal bewaakt worden door de secretaris van de DEC. Tot die tijd wordt het protocol vastgehouden en zullen er geen dierproeven gestart worden.</u> Onderzoeker heeft nog geen gevolg gegeven aan de voorwaarden gesteld door de DEC.
2004.004	<i>Titel: Diermodel voor de ontwikkeling van remmende antistoffen gericht tegen factor VIII; analyse T cel compartiment.</i> Inhoud: De vorming van antistoffen gericht tegen factor VIII is een belangrijke complicatie bij de behandeling van patiënten met de bloederziekte hemofilie A. Door de aanwezigheid van anti-factor VIII antistoffen is de behandeling met factor VIII concentraat niet meer effectief. Dit kan gepaard gaan met ernstige bloedingcomplicaties. Dit project beoogt meer inzicht te verschaffen betreffende factoren die bijdragen aan het ontstaan van antistoffen bij de milde vorm van hemofilie A. Recent is een transgene muis geconstrueerd die een humane variant van factor VIII met 1 enkele aminozuursubstitutie tot expressie brengt (zie voorgaand onderzoek). Na intraveneuze toediening van factor VIII ontstaan er in muizen met dit genotype geen antistoffen. Door de introductie van het humane eiwit is de muis tolerant geworden voor humaan factor VIII. De betreffende mutatie in factor VIII komt frequent voor binnen de Nederlands populatie van hemofilie A patiënten. Ongeveer 10% van de patiënten

Protocol nr.	Beschrijving, proefopzet, opmerkingen/toelichtingen en DEC advies
Vervolg 2004.004	ontwikkeld antistoffen na behandeling met factor VIII. De behandeling bestaat uit het intraveneus toedienen van gezuiverde factor VIII preparaten. Recente gegevens wijzen erop dat antistoffen vooral ontstaan direct na een operatieve ingreep. Tot nu toe is niet bekend welke factoren bijdragen aan de vorming van antistoffen in deze groep patiënten. Een van de mogelijkheden is dat een infectie bijdraagt aan de vorming van antistoffen. Deze hypothese is recent onderzocht door subcutaan factor VIII toe te dienen in aanwezigheid van een adjuvant. Onder deze condities wordt tolerantie doorbroken en wordt in ongeveer 70% van de muizen antistoffen aangetroffen. Dit model vormt een uitgelezen mogelijkheid om factoren te bepalen die bijdragen aan doorbreken van tolerantie in een relevant proefdiermodel voor hemofilie A. Dit kan in de toekomst resulteren in een betere behandeling. Tevens is het niet uitgesloten dat de verkregen kennis gebruikt kan worden om preventieve maatregelen te nemen waardoor antistofvorming niet of minder frequent zal optreden. Opmerkingen/vragen DEC: In de proefopzet wordt niet duidelijk weergegeven hoe de dieren verdeeld zijn over de verschillende onderdelen van de proef. In het DEC-protocol zal een kleine aanpassing worden aangebracht waardoor duidelijk wordt dat voor het eerste onderdeel 10 dieren per groep worden gebruikt en voor het tweede onderdeel 15 dieren per groep. De secretaris van de DEC zal het protocol dienovereenkomstig laten aanpassen. De onderzoeker geeft in de tabel van paragraaf 4.1 aan dat men F8KO muizen zal gebruiken. In paragraaf 4.2 wordt echter gesproken over E16-KO muizen. Is dit dezelfde muizenstam? De secretaris van de DEC zal contact opnemen met de onderzoeker en zal deze opmerkingen met de onderzoeker bespreken en, indien nodig, het protocol op laten verduidelijken. Dit staat echter een goedkeuring door de DEC niet in de weg, aangezien de relevante informatie voor de ethische toetsing voorhanden is. <i>Duur proef: 2 tot 4 weken</i> <i>Geldigheidstermijn DEC-protocol: 2 jaar Aantal dieren: 100 muizen</i> <i>Inschatting ongertief: 5 (ernstig) bij 50 dieren door gebruik van CFA als adjuvant en 2 (gering/matig) bij 50 dieren door i.v. injectie en immunisatie zonder adjuvant.</i> <i>Doel proef: 33 (Wetenschappelijke vraag mbt andere ziekten bij mensen)</i> Advies DEC: <u>Positief advies</u> Voetnoot: Na contact met de onderzoeker bleek dat de benaming F8KO en E16 KO beiden dezelfde muizenstam aanduiden. Om verwarring te voorkomen is het protocol aangepast en in paragraaf 4.2 aangegeven dat F8KO muizen zullen worden gebruikt.
2004.005	<i>Titel: Suppressie van de ontwikkeling van remmende antistoffen tegen factor VIII door middel van orale toediening van Salbutamol.</i> Inhoud: De vorming van antistoffen gericht tegen factor VIII is een belangrijke complicatie bij de behandeling van patiënten met de bloederziekte hemofilie A. Door de aanwezigheid van, tegen factor VIII gerichte antistoffen, is de behandeling met factor VIII concentraat niet meer effectief. Dit kan gepaard gaan met ernstige bloedingcomplicaties. Dit project beoogt een methode op te zetten waarmee de antilichaamrespons tegen factor VIII voorkomen kan

Protocol nr.	Beschrijving proefopzet, opmerkingen/toelichtingen en DEC advies
Vervolg 4004.005	worden. Hierbij wordt gebruik gemaakt van de β2-adrenerge receptor agonist salbutamol. Door binding van salbutamol aan de β2-adrenerge receptor wordt de intracellulaire concentratie van cAMP verhoogd. Verhoogde concentraties van deze zogenaamde "second messenger" beïnvloeden een groot aantal intracellulaire processen. In vitro is aangetoond dat salbutamol de synthese van cytokines, die in het algemeen bij een ontsteking betrokken zijn, sterk remmen. De vorming van regulatoire cytokines die een remmende invloed hebben op afweerreacties wordt echter sterk geïnduceerd. In een eerder uitgevoerd experiment leek de orale toediening van salbutamol gedurende de beginfase van de behandeling met factor VIII, de ontwikkeling van antilichamen tegen intraveneus toegediend factor VIII te remmen. In deze studie zal worden getracht het remmende effect van salbutamol op de vorming van antistoffen tegen intraveneus toegediend factor VIII te optimaliseren. Tevens zal worden geanalyseerd of salbutamol gedurende een langere periode effectief is in het voorkomen van een antilichaamrespons en of er sprake is van inductie van tolerantie tegen factor VIII door de behandeling met salbutamol. Voor deze experimenten worden muizen gebruikt die geen endogeen factor VIII aanmaken (FVIII KO), aangezien dit model staan voor patiënten die lijden aan een ernstige vorm van hemofilie A. Opmerkingen/vragen DEC: In de proefopzet is in tabel 2 niet duidelijk weergegeven wat de frequentie en het aantal i.v. injecties zal zijn. Tevens is niet geheel duidelijk vanaf welke week de salbutamol zal worden toegediend. In de proefopzet wordt aangegeven dat de groepsgrootte voor alle proeven 7 zal zijn. In tabel 4.1 is echter aangegeven dat bij groep V 5 dieren zullen worden gebruikt. De secretaris van de DEC zal contact opnemen met de onderzoeker en zal deze opmerkingen met de onderzoeker bespreken en, indien nodig, het protocol op deze punten laten verduidelijken. Dit staat echter een goedkeuring door de DEC niet in de weg, aangezien de relevante informatie voor de ethische toetsing voorhanden is. <i>Duur proef: maximaal 5 weken</i> <i>Geldigheidstermijn DEC-protocol: 2 jaar</i> <i>Aantal dieren: 63 muizen</i> <i>Inschatting ongerief: 3 (matig) door frequent injecteren</i> <i>Doel proef: 33 (Wetenschappelijke vraag m.b.t. andere ziekten bij mensen)</i> Advies DEC: Positief advies Voetnoot: Na contact met de onderzoeker is vastgesteld dat voor alle proeven de frequentie van de i.v. injectie 1 keer per week zal zijn. Dit betekent dat de groepen 1 t/m 5 en 9 in totaal 5 injecties zullen krijgen en groepen 6 t/m 8 in totaal 10 injecties. Afhankelijk van de resultaten van de eerste proef, zal bepaald worden vanaf welk moment Salbutamol zal worden toegediend bij het tweede experimenten. Voor alle groepen geldt dat per groep 7 dieren zullen worden gebruikt. Deze opmerkingen zijn verwerkt in het protocol.
2004.006	<i>Titel: Opwekken van een immuunrespons tegen een gemodificeerde peptide van de androgene receptor.</i> <i>Inhoud: Bij dit onderzoek wordt een immuunrespons opgewekt tegen een</i>

Protocol nr.	Beschrijving proefopzet, opmerkingen/toelichtingen en DEC advies
Vervolg 2004.006	gemodificeerd peptide van de androgeen receptor. Deze modificatie speelt een rol bij de resistentie tegen een anti-androgeen (flutamide). Nagegaan wordt of m.b.v. deze antisera in een vroeg stadium resistentie tegen flutamide bij behandeling van prostaatkankerpatiënten kan worden vastgesteld. Indien dit het geval is, kunnen deze patiënten met andere middelen worden behandeld. Opmerkingen DEC: In de proefopzet wordt aangegeven dat in het verleden geprobeerd is om zonder CFA antistoffen op te wekken met een mild adjuvant en dat dit op tot heden niet is gelukt. Er wordt echter geen melding gemaakt welk adjuvant hierbij is gebruikt. Omdat binnen Sanquin is gebleken dat het milde adjuvant Montanide in veel gevallen wel voldoende antistofrespons geeft, wil de DEC graag weten of bij eerdere experimenten gebruik is gemaakt van Montanide. Is dit niet het geval dan stelt de DEC voor, dat de onderzoeker in plaats van alle 4 de konijnen alleen met CFA te immuniseren, 2 konijnen met Montanide en 2 konijnen met CFA te immuniseren. Indien in het verleden wel Montanide is gebruikt als adjuvant maar dit onvoldoende antistofrespons geeft, heeft de DEC geen bezwaar tegen deze proefopzet. De secretaris van de DEC zal contact op laten nemen met de onderzoeker betreffende het bovenstaande punt om hierover duidelijkheid te verkrijgen. <i>Duur proef: een maand tot meerdere maanden afhankelijk van immuunrespons</i> <i>Geldigheidstermijn DEC-protocol: 1 jaar</i> <i>Aantal dieren: 12 konijnen</i> <i>Inschatting ongerief: ongerief 3 (matig) bij 8 dieren door pre-immunisatie</i> <i>afname onder narcose, ongerief 4 (matig/ernstig) bij 4 dieren door gebruik van CFA als adjuvant</i> <i>Doel proef: 30 (wetenschappelijke vraag m.b.t kanker (excl. carcinogene stoffen) bij mensen)</i> Advies DEC: <u>Positief advies onder voorwaarde dat de onderzoeker eerst aangeeft of als adjuvant Montanide is gebruikt. Indien in het verleden geen Montanide als adjuvant is gebruikt, zal de proefopzet worden aangepast zoals hierboven vermeld. Wanneer de onderzoeker wel Montanide als adjuvants heeft gebruikt ziet de DEC geen bezwaar in het uitvoeren van de experimenten zoals omschreven, maar ziet dan wel graag dat dit vermeld wordt in het DEC-protocol. Dit zal bewaakt worden door de secretaris van de DEC. Tot die tijd wordt het protocol vastgehouden en zullen er geen dierproeven gestart worden.</u> Voetnoot: Na contact met de onderzoeker is vastgesteld dat in het verleden pogingen zijn ondernomen om met Montanide als adjuvant polyclonalen op te wekken. Dit is alsnog vermeld in het protocol.
Uitbreiding 2004.006	2004.006 Titel: <i>Opwekken van immuunrespons tegen een gemodificeerde peptide van de androgeen receptor</i> Inhoud: zie hierboven Door de onderzoeker is bij de DEC een uitbreiding aangevraagd ten aanzien van DEC-protocol 2004.006. In het betreffende al goedgekeurde DEC-protocol zijn 2 konijnen aangevraagd voor de immunisatie met gefosforyleerde peptiden en 2 konijnen voor het immunisatie van niet gefosforyleerde peptide als controle. Uit recent verkregen informatie blijkt dat van 8 konijnen die geïmmuniseerd werden met gefosforyleerde peptiden slechts 1 a 2 dieren een goede antistof

Protocol nr.	Beschrijving proefopzet, opmerkingen/toelichtingen en DEC advies
	respons gaven. Om de kans op voldoende antistoffen te verhogen, wil de onderzoeker in plaats van 2 konijnen, 8 konijnen immuniseren met de gefosforyleerde peptide. De grootte van de controle groep (met niet gefosforyleerde peptide) zal gehandhaafd blijven (2 dieren). <i>Duur proef: een maand tot meerdere maanden afhankelijk van immuunrespons</i> <i>Periode waarvoor toestemming: 1 jaar</i> <i>Totaal aantal dieren: aangepast van 4 naar 10 konijnen voor de immunisatie</i> <i>Inschatting ongerief: 4 (matig/ernstig door gebruik van CFA als adjuvant).</i> <i>Doel proef: 30 (wetenschappelijke vraag mbt kanker bij mensen)</i> Advies DEC: Positief advies
2004.007	<i>Titel: Opwekken van een immuunrespons tegen gemodificeerde peptide van een estrogene receptor.</i> <i>Inhoud: Bij dit onderzoek wordt een immuunrespons opgewekt tegen een gemodificeerd peptide van de estrogene receptor. De modificatie speelt een rol bij de resistentie tegen een anti-estrogeen (tamoxifen). Nagegaan wordt of m.b.v. deze antisera in een vroeg stadium resistentie tegen tamoxifen bij behandeling van borstkankerpatiënten kan worden vastgesteld. Indien dit het geval is, kunnen patiënten met andere middelen worden behandeld.</i> <i>Opmerkingen DEC: In de proefopzet wordt aangegeven dat in het verleden geprobeerd is om zonder CFA antistoffen op te wekken met een mild adjuvant en dat dit op tot heden niet is gelukt. Er wordt echter geen melding gemaakt welk adjuvant hierbij is gebruikt. Omdat binnen Sanquin is gebleken dat het milde adjuvant Montanide in veel gevallen wel voldoende antistofrespons geeft, wil de DEC graag weten of bij eerdere experimenten gebruik is gemaakt van Montanide. Is dit niet het geval dan stelt de DEC voor, dat de onderzoeker in plaats van alle 4 de konijnen alleen met CFA te immuniseren, 2 konijnen met Montanide en 2 konijnen met CFA te immuniseren. Indien in het verleden wel Montanide is gebruikt als adjuvant maar dit onvoldoende antistofrespons geeft, heeft de DEC geen bezwaar tegen deze proefopzet. De secretaris van de DEC zal contact op laten nemen met de onderzoeker betreffende het bovenstaande punt om hierover duidelijkheid te verkrijgen.</i> <i>Duur proef: een maand tot meerdere maanden afhankelijk van immuunrespons</i> <i>Geldigheidstermijn DEC-protocol: 1 jaar</i> <i>Aantal dieren: 12 konijnen</i> <i>Inschatting ongerief: ongerief 3 (matig) bij 8 dieren door pre-immunistatie</i> <i>afname onder narcose, ongerief 4 (matig/ernstig) bij 4 dieren door gebruik van CFA als adjuvant</i> <i>Doel proef: 30 (wetenschappelijke vraag m.b.t. kanker (excl. carinogene stoffen) bij mensen)</i> Advies DEC: <u>Positief advies onder voorwaarde dat de onderzoeker eerst aangeeft of als adjuvant Montanide is gebruikt. Indien in het verleden geen Montanide als adjuvant is gebruikt, zal de proefopzet worden aangepast zoals hierboven vermeld. Wanneer de onderzoeker wel Montanide als adjuvants heeft gebruikt ziet de DEC geen bezwaar in het uitvoeren van de experimenten zoals omschreven, maar ziet dan wel graag dat dit vermeld wordt in het DEC-protocol. Dit zal bewaakt worden door de secretaris van de DEC. Tot die tijd wordt het protocol vastgehouden en</u>

Protocol nr.	Beschrijving, proefopzet, opmerkingen/toelichtingen en DEC advies
Vervolg 2004.007	<u>zullen er geen dierproeven gestart worden.</u> Voetnoot: Na contact met de onderzoeker is vastgesteld dat in het verleden pogingen zijn ondernomen om met Montanide als adjuvant polyclonalen op te wekken. Dit is alsnog vermeld in het protocol.
Uitbreiding 2004.007	2004.007 Titel: <i>Opwekken van een immuunrespons tegen gemodificeerde peptide van een estrogene receptor.</i> Inhoud: zie hierboven Door de onderzoeker is bij de DEC een uitbreiding aangevraagd ten aanzien van DEC-protocol 2004.007. In het betreffende al goedgekeurde DEC-protocol zijn 2 konijnen aangevraagd voor de immunisatie met gefosforyleerde peptiden en 2 konijnen voor het immunisatie van niet gefosforyleerde peptide als controle. Uit recent verkregen informatie blijkt dat van 8 konijnen die geïmmuniseerd werden met gefosforyleerde peptiden slechts 1 a 2 dieren een goede antistof respons gaven. Om de kans op voldoende antistoffen te verhogen wil de onderzoeker in plaats van 2 konijnen, 8 konijnen immuniseren met de gefosforyleerde peptide. De controle groep (met niet gefosforyleerde peptide) zal twee konijnen blijven. <i>Duur proef: een maand tot meerdere maanden afhankelijk van immuunrespons</i> <i>Geldigheidstermijn DEC-protocol: 1 jaar</i> <i>Aantal dieren: aangepast van 4 naar 10 konijnen voor de immunisatie</i> <i>Inschatting ongerief: 4 (matig/ernstig door gebruik van CFA als adjuvant)</i> <i>Doel proef: 30 (wetenschappelijke vraag m.b.t. kanker bij mensen)</i> Advies DEC: Positief advies
2004.008	Titel: <i>Optimisation of DNA vector in order to achieve sustained Factor VIII and von Willibrand Factor gene expression by nonviral vector delivery to endothelial cells in vivo.</i> Inhoud: Voor VWF-eGFP kan met behulp van een ELISA een indicatie verkregen worden dat eiwit aanwezig is in plasma na toediening van VWF-eGFP gecomplexeerd aan IPEI. Dit is echter alleen het geval na 24 uur, na dit tijdstip lijkt geen eiwit meer in het plasma aanwezig. De verwachting is dat dit wordt veroorzaakt door het 'silencen' van de virale CMV promotor. Dit wordt geïllustreerd door de observaties van Gill et al. (Gene Ther., 2001) waarin door middel van kwantitatieve TaqMan PCR analyse aangetoond is dat een daling in eiwitexpressie niet werd veroorzaakt door verlies van de DNA vector, maar door een verminderde transcriptie daarvan. In deze studie wordt gebruik gemaakt van een type VWF-eGFP construct waarbij 'silencing' minder snel optreedt om zo de productie van VWF-eGFP te verlengen en te stabiliseren. In een studie van [REDACTED] (Molecular Therapy, Vol 7, No 5, May 2003 623-631) wordt een robuuste transcriptie promotor beschreven, de CAG promotor, bestaande uit de chicken β-actine promotor, enhancers en een groot synthetisch intron. Deze promotor wordt niet (zo snel) gesilenced zoals duidelijk wordt door Western blot analyses waarbij tien weken na transfectie van muizen nog FVIII-eiwit in verschillende weefsels gedetecteerd kon worden. Tevens bezit deze promotor een groot synthetisch intron. Verschillende studies hebben aangetoond dat de inclusie van intron elementen die authentieke splice/donor sites bezitten de gen expressie in vivo significant kunnen verhogen (Wang et al., 1996; Miao et al., 2000; Hauser et al.,

Protocol nr.	Beschrijving proefopzet, opmerkingen/toelichtingen en DEC advies
Vervolg 2004.008	2000). Deze intron elementen kunnen het transcript stabiliseren of de synthese van het transcript faciliteren. In de huidige aanvraag wordt de CMV promotor van het huidige pcDNA3.1 VWF-eGFP construct verwisseld voor de genoemde CAG-promotor om op die manier silencing van het construct tegen te gaan en het mRNA te stabiliseren. Het DNA construct zal worden gecomplexeerd met behulp van IPEI. De muizen worden intraveneus geïnjecteerd met het DNA complex en op vijf tijdstippen na injectie (1, 3, 7, 15 en 30 dagen) opgeofferd. Voor FVIII-eGFP is tot nu toe nog geen eiwit aangetoond, anders dan voor VWF. Gezien de onzekerheid omtrent productie van het eiwit wordt deze studie kleiner opgezet dan het VWF gedeelte waar al wel productie is aangetoond. Ook in dit geval zal de CMV promotor verwisseld worden voor de al eerder beschreven CAG-promotor. Daarnaast is recentelijk beschreven door Miao et al. (Blood, 2004) dat een deel van het B-domein, dat geen rol speelt in de functie van FVIII, wel bijdraagt tot efficiënte secretie van het eiwit door de cel. In een tweede strategie wordt het FVIII-eGFP construct vervangen door een in het laboratorium welbekend FVIII dB 695 construct dat het betreffende gedeelte van het B-domein bevat. Deze variant zal worden gekloneerd in de vector die voorafgegaan wordt door de CAG-promotor. De DNA constructen zullen worden gecomplexeerd mbv IPEI. De muizen worden intraveneus geïnjecteerd met het DNA complex en op twee tijdstippen na injectie (24 uur, 72 uur) opgeofferd. <i>Duur proef: afhankelijk van onderdeel 24 of 72 uur</i> <i>Geldigheidstermijn DEC-protocol: 2 jaar</i> <i>Aantal dieren: 45 muizen</i> <i>Ongerief: 4 (matig/ernstig) door het gebruik van carrier</i> <i>Doel proef: 33 (wetenschappelijke vraag m.b.t. ziekten bij mensen)</i> Advies DEC: Positief advies
2004.009	Titel: Klaring van recombinant C1-Inhibitor in konijnen Inhoud: Onderzoek naar klaring van recombinant C1-Inh geproduceerd in P. Pastoris. Het gaat hierbij om een vergelijking van de halfwaardetijden van recombinant en plasma C1-Inhibitor. Van diverse recombinant varianten (mutanten) wordt de halfwaardetijd vastgesteld om een inschatting te maken over de klinische toepasbaarheid van recombinant C1-inhibitor varianten. In een serie proeven met konijnen zal C1-Inhibitor worden ingespoten waarna plasmamonsters worden afgenomen. De aanwezigheid van C1-Inhibitor wordt in het lab bepaald ten einde de halfwaardetijd te berekenen. Opmerkingen/vragen DEC: In de proefopzet wordt gesproken over een frequente bloedafname van de dieren met name gedurende de eerste 90 minuten. De DEC begrijpt dat dit kritisch is om voldoende inzicht te verkrijgen in geval van een snelle klaring, maar zou dit toch nader gespecificeerd willen zien. Ter vergadering kon m.b.t. dit punt duidelijkheid worden gegeven. Het aantal bloedafnames zal gedurende deze periode inderdaad het meest frequent zijn en zullen maximaal iedere 30 minuten plaatsvinden, terwijl het konijn gedurende deze tijd onder een narcoseroes gehouden zal worden om het ongerief zoveel mogelijk te beperken. Voor de behandeling van welke ziekte wordt C1 inhibitor gebruikt?

Protocol nr.	Beschrijving proefopzet, opmerkingen/toelichtingen en DEC advies
	Antwoord onderzoeker: Hereditary Anioedema (HAE) in een aandoening waarbij mensen C1-inh deficiënt zijn. Deze mensen kunnen als therapie C1-inh toegediend krijgen. Dit kan uit plasma gezuiverd C1-inh zijn (pC1-inh). Er is nu echter ook recombinant C1 inhibitor gemaakt in P. Pastoris. Van rC1-inh en verschillende mutanten van dit rC1-inh zal gekeken worden hoe deze eiwitten geklaard worden om te zien of de producten toepasbaar zijn in de mens. <i>Duur proef: maximaal 72 uur</i> <i>Geldigheidstermijn DEC-protocol: 1 jaar</i> <i>Aantal dieren: 32 konijnen</i> <i>Inschatting ongerief: ongerief 3 (matig) bijkomen uit narcose bij bloedafname</i> <i>Doel proef: 03 (onderzoek m.b.t. de mens bij het ontwikkelen van geneesmiddelen)</i> Advies DEC: <u>Positief advies (onder voorwaarde dat het precieze afnameschema aan het protocol zal worden toegevoegd). Dit zal bewaakt worden door de secretaris van de DEC. Tot die tijd wordt het protocol vastgehouden en zullen er geen dierproeven gestart worden.</u> Voetnoot: De onderzoeker heeft het afnameschema voor het pilot-onderzoek toegevoegd aan het DEC-protocol.
2004.010	Titel: Klaring van humane complement activatieproducten C1q-C3/C4 en MBL-C3/C4 complexen in konijnen Inhoud: Onderzoek naar klaring van humane complement activatieproducten. C1q-complexen en MBL-complexen zijn nieuw geïdentificeerde activatieproducten van het complement systeem. De klaringstijd van deze complexen zal worden vergeleken met de klaringstijd van de ongecomplexeerde complement eiwitten C1q en MBL. Dit zal meer inzicht geven in de mogelijkheden voor een nieuwe diagnostische test. In een serie proeven zal een mengsel worden ingespoten van gezuiverd humaan C1q en MBL, welke een hoeveelheid complexen bevatten. Op gezette tijden zullen plasmamonsters worden afgenomen. In het laboratorium zal mbv ELISA de hoeveelheid van de eiwitten worden bepaald. Opmerkingen/vragen DEC: Gelet op het feit dat de uitvoering gelijk zal zijn aan hetgeen is beschreven in DEC-protocol 2004.009, stelt de DEC ook hierbij dezelfde voorwaarde. In par. 1.8 wordt gesproken over een diagnostische test. Om welke test gaat dat en waar wordt deze voor gebruikt? Antwoord onderzoeker: In veel humane ziektes (als sepsis, acute myocardi infarct, ischemie/reperfusieschade) is het complementsysteem betrokken. Om te kunnen bepalen in hoeverre welke van de drie complement activatieroutes een rol speelt bij welke ziekte, zijn assays ontwikkeld waarbij specifieke activatieproducten gemeten kunnen worden voor zowel de klassieke route als de MBL-route van het complementsysteem. Om de assays beter te kunnen doorgronden, zal bekeken worden hoe snel deze activatieproducten geklaard worden. <i>Duur proef: maximaal 72 uur</i> <i>Geldigheidstermijn DEC-protocol: 1 jaar</i> <i>Aantal dieren: 8 konijnen</i> <i>Inschatting ongerief: ongerief 3 (matig) bijkomen uit narcose bij bloedafname</i>

Protocol nr.	Beschrijving proefopzet, opmerkingen/toelichtingen en DEC advies
Vervolg 2004.010	<i>Doel proef: 33 (wetenschappelijke vraag m.b.t. ziekten bij mensen)</i> Advies DEC: Positief advies onder voorwaarde dat het precieze afnameschema aan het protocol zal worden toegevoegd). Dit zal bewaakt worden door de secretaris van de DEC. Tot die tijd wordt het protocol vastgehouden en zullen er geen dierproeven gestart worden. Voetnoot: De onderzoeker heeft het afnameschema voor het pilot-onderzoek toegevoegd aan het DEC-protocol.
2004.011	<i>Titel: Generating an anti-idiotypic antibody to crossreact with most human anti RhD antibodies.</i> Inhoud: Ter voorkoming van een anti-D immuunrespons als gevolg van een zwangerschap wordt anti-D immunoprophylaxe als therapie toegepast. Deze immunoprophylaxe bestaat uit het toedienen van anti-RhD Immunoglobuline G (IgG). Ondanks het succes van deze therapie, zijn er nog steeds vrouwen die geïmmuniseerd raken met als gevolg dat bij een volgende zwangerschap van een D/positief kind de mogelijkheid bestaat dat het kind ernstig ziek zal worden. Uit resultaten van de onderzoeksgroep is gebleken dat de IgG moleculen betrokken bij de anti-RhD response zeer veel op elkaar lijken. Dit opent nieuwe perspectieven om mogelijk een antistof te produceren die de binding van de allo/antistof van de moeder aan de rode bloedcel van het kind kan remmen. Het doel van het aangevraagde onderzoek is om een monoklonaal antilichaam te generen in een muis, waarna het gevonden muizen antilichaam in het laboratorium veranderd kan worden in een humaan antilichaam. <i>Duur proef: maximaal 46 dagen</i> <i>Geldigheidstermijn DEC-protocol: 1 jaar</i> <i>Aantal dieren: 4 muizen</i> <i>Inschatting ongerief: 3 (matig door gebruik van Montanide als adjuvant)</i> <i>Doel proef: 1 (Onderzoek m.b.t. de mens voor het ontwikkelen van sera/vaccins/biologische producten).</i> Advies DEC: Positief advies
2004.012	<i>Titel: Detection of human platelets in the peripheral blood (and organs) of NOD/SCID mice in the perspective of an ex vivo expansion protocol of megakaryocytes.</i> Inhoud: Bij een perifere stamceltransplantatie worden de stamcellen gemobiliseerd vanuit het beenmerg naar het perifere bloed door toediening van groeifactoren (bijv. G-CSF), vervolgens afgenomen en tijdelijk opgeslagen (cryopreservatie). Na conditionering van de patiënt wordt het transplantaat intraveneus toegediend aan de patiënt. De hematopoïetische stamcellen verlaten de bloedbaan en nestelen zich in de lege beenmergholtes (homing). Vervolgens begint het proces van proliferatie en differentiatie. Pas na 2 weken en soms zelfs later, zijn er voldoende, van het transplantaat afkomstige, bloedplaatjes aanwezig. Tot die tijd is de patiënt afhankelijk van allogene plaatjestransfusies. De nadelen hiervan zijn: hoge kosten, mogelijke inductie van antistofformatie bij herhaalde transfusies en kans op overdragen van besmettelijke ziekten. Dit vraagt om de ontwikkeling van een autoloog transfusieproduct wat de tijd tot hematologisch herstel van de patiënt kan verkorten. In een recent verleden is in het laboratorium hiervoor de aanzet

Protocol nr.	Beschrijving, proefopzet, opmerkingen/toelichtingen en DEC advies
Vervolg 2004.012	gegeven door CD34+ stamcellen te expanderen en te laten rijpen in de megakaryocytaire richting (vanuit een megakaryocyt worden bloedplaatjes gevormd). Deze procedure is zo succesvol gebleken dat het zal worden toegepast in een klinische trial waarbij 10 non-Hodgkin lymfoom patiënten worden getransplanteerd met ge-expandeerde megakaryocyten samen met een ongemanipuleerd stamceltransplantaat. Om de kinetiek van homing en engraftment van geëxpandeerde cellen in de verschillende organen te kunnen bestuderen is het noodzakelijk om gebruik te maken van een in vivo model voor humane hematopoïese, de NOD/SCID muis. Opmerkingen/vragen DEC: 1. Waarom worden er verschillende doseringen en verhoudingen van stamcellen en geëxpandeerde cellen onderzocht? 2. In par. 4.7 staat aangegeven dat sterfte van 10-30% van de dieren als gevolg van de subletale bestraling te verwachten is. Op basis van deze inschatting verwacht de DEC dat er ook een aanzienlijk aantal dieren ernstig ziek zullen worden. Naar de mening van de DEC is het aangegeven ongerief (code 4; matig/ernstig) te laag ingeschat en doet code 5 (ernstig) meer recht aan de situatie. Antwoord onderzoeker: 1. Uit eerder onderzoek is gebleken dat het toedienen van geëxpandeerde cellen ervoor zorgt dat er een eerder herstel van het aantal bloedplaatjes optreedt. Tevens is gebleken dat indien men teveel geëxpandeerde cellen toedient het herstel van de bloedplaatjes juist minder goed verloopt. Tijdens dit onderzoek wordt onderzocht wat de juiste verhouding en de dosering van ongemanipuleerde stamcellen en geëxpandeerde cellen is om een optimaal effect in het herstel van het aantal bloedplaatjes te krijgen. Tevens wordt gekeken naar de kinetiek van homing en engraftment van de cellen in de verschillende organen. 2. Het ingeschatte percentage van sterfte is voornamelijk gebaseerd op de uitkomsten van een eerdere series proeven. Deze lag namelijk op 30%. Mede door de hoge sterfte, is bij vervolgprouven gebruik gemaakt van NOD/SCID muizen van een andere leverancier en is gebleken dat het sterftepercentage van deze dieren beduidend lager was (10%). Wel zijn de dieren voor een korte periode erg ziek geweest. De onderzoeker is het met de DEC eens dat een hogere code ongerief (code 5) meer recht doet aan de situatie. Dit zal in het DEC-protocol worden aangepast. <i>Duur proef: maximaal 42 dagen</i> <i>Geldigheidstermijn DEC-protocol: 1 jaar</i> <i>Aantal dieren: 50 muizen</i> <i>Inschatting ongerief: aangepast van 4 (matig ernstig) naar 5 (ernstig) door subletale bestraling</i> <i>Doel proef: 30 (Wetenschappelijke vraag m.b.t. kanker bij mensen)</i> Advies DEC: Positief advies
2004.013	<i>Titel: Ontwikkelen van een bepaling voor Aβ-peptide.</i> <i>Inhoud: Aβ-peptide is een afbraak product van het amyloid precursor proteïne (APP). Het peptide speelt een belangrijke rol in de pathogenese van de ziekte van Alzheimer. De pathogene effecten van Aβ-peptide worden deels</i>

Protocol nr.	Beschrijving proefopzet, opmerkingen/toelichtingen en DEC advies
Vervolg 2004.013	veroorzaakt door het vermogen om complement te activeren. Doel van het onderzoek is complement activatie door Aβ-peptide te bestuderen. De aangemelde dierproeven hebben tot doel polyclonale antistoffen tegen het Aβ-peptide te verkrijgen en deze te zuiveren. De antistoffen worden gebruikt om bepalingen op te zetten voor het aantonen van Aβ-peptide, met name wanneer dit gereageerd heeft met het complementsysteem. Deze bepalingen worden toegepast om gehalten van het peptide en de biochemische structuur ervan te bepalen in bloed en liquor van patiënten met de ziekte van Alzheimer. De resultaten van deze bepalingen worden bestudeerd voor wat betreft hun diagnostische en prognostische waarde. Mogelijk zal aan de hand van deze bepalingen therapeutische interventies bij patiënten met de ziekte van Alzheimer worden gemonitord. Vraag DEC: Waar en op hoeveel injectie plaatsten wordt geïmmuniseerd? Waarom is er voor ongeriefcode 4 gekozen in niet voor 5? In de biotechniekenlijst staat namelijk een bandbreedte aangegeven voor deze techniek van 4-5. Antwoord onderzoeker: Bij de i.m. immunsatie van konijnen wordt in beide laterale rugspieren en in beide dijbenen 0,5 ml per injectieplaats toegediend. Op basis van jarenlange ervaring kan gesteld worden dat er bij de controle van immunisatiekonijnen zelden afwijkingen in gedrag, motoriek, voedselopname en na palpatatie worden waargenomen. Derhalve wordt er standaard voor konijnen gekozen voor ongeriefcode 4. Code ongerief 5 wordt geadviseerd bij injectie van muizen. <i>Duur proef: een maand tot meerdere maanden afhankelijk van immuunrespons</i> <i>Geldigheidstermijn DEC-protocol: 1 jaar</i> <i>Aantal dieren: 4 konijnen</i> <i>Inschatting ongerief: 2 konijnen ongerief 4 (matig/ernstig) CFA als adjuvant</i> <i>2 konijnen ongerief (3 matig) Montanide als adjuvant</i> <i>Doel proef: 32 (wetenschappelijke vraag met betrekking tot geestesziekten of ziekten aan het zenuwstelsel bij de mens)</i> Advies DEC: Positief advies
2004.014	Titel: Productie van immuunreagentia voor diagnostisch bloedonderzoek bij mensen. Inhoud: Het bereiden van reagentia (antisera) die gericht zijn tegen diverse humane serumeiwitten en celspecifieke antigenen. Naast het belang van goede reagentia ten behoeve van laboratoriumdiagnostiek, kan tevens voor wetenschappelijke doeleinden de correlatie tussen afwijkende eiwitpatronen in plasma en bepaalde ziektebeelden worden gelegd. Ondanks gericht onderzoek naar alternatieven door de onderzoeksgroep zelf, zal voorlopig nog steeds gebruik gemaakt moeten worden van polyclonalen. <i>Duur proef: een maand tot meerdere maanden afhankelijk van immuunrespons</i> <i>Geldigheidstermijn DEC-protocol: 1 jaar</i> <i>Aantal dieren: 250 schapen en 20 konijnen</i> <i>Inschatting ongerief: 4 (matig/ernstig door gebruik van CFA)</i> <i>Doel proef: 1 (Onderzoek m.b.t. de mens voor het ontwikkelen van sera/vaccins/biologische producten).</i>

Protocol nr.	Beschrijving proefopzet, opmerkingen/toelichtingen en DEC advies
	Advies DEC: Positief advies
2004.015	<i>Titel: Determination of the detection level of human cells in mouse blood.</i> <i>Inhoud: Als aanvulling op het reeds goedgekeurde DEC-protocol 2004.012 acht de onderzoeksgroep het van wezenlijk belang om tevens het detectieniveau van humane cellen in muizenbloed te bepalen. De informatie verkregen uit dit oorspronkelijke DEC-protocol is derhalve door de DEC in haar afwegingen meegenomen.</i> Opmerkingen DEC: De DEC heeft geen bezwaar tegen deze aanvullende proef bij DEC-protocol 2004.012. Wel is er bij de DEC wat verwarring ontstaan met betrekking tot het aantal aangevraagde dieren en de periode van toestemming. Het aangevraagde aantal dieren is namelijk hoger dan het aantal dieren in het moederprotocol. Tevens is de aangevraagde geldigheidstermijn voor dit DEC-protocol langer dan de geldigheidstermijn van het moederprotocol (2004.012). Afgesproken is dat de secretaris DEC dit met de aanvrager zal kortsluiten. <i>Duur proef: minder dan één dag</i> <i>Geldigheidstermijn DEC-protocol: 10 ½ maand</i> <i>Aantal dieren: 10 muizen</i> <i>Inschatting ongerief: 1 (gering, door het niet meer bijkomen uit de narcose na de verbloeding)</i> <i>Doel proef: 30 (andere wetenschappelijke vraag).</i> <u>Advies DEC: Positief advies na verduidelijking van het protocol. Dit zal bewaakt worden door de secretaris van de DEC. Tot die tijd wordt het protocol vastgehouden en zullen er geen dierproeven gestart worden.</u> Voetnoot: Met de onderzoeker is afgesproken dat de geldigheidstermijn voor dit DEC-protocol hetzelfde zal zijn als de geldigheidstermijn van het moederprotocol. Verder is het aantal dieren in het DEC-protocol terug gebracht naar hetzelfde aantal als in het moederprotocol (10).

5. Knelpunten

Er zijn tijdens het verslagjaar geen knelpunten geconstateerd die het goed functioneren van de DEC hebben gehinderd. Het overleg met de betreffende artikel 9 functionarissen was zeer goed te noemen en nagenoeg alle adviezen gericht op inhoudelijke aanpassing van protocollen waren overgenomen.

6. Opheffing DEC-Sanquin

Binnen de DEC was al eerder gesproken over het eventueel uitbesteden van het beoordelen van onderzoeksprotocollen aan een externe DEC. Enige jaren geleden had de vergunninghouder zich uitgesproken voor handhaven van een eigen DEC. In deze situatie is nu verandering gekomen daar een groot deel van het wetenschappelijk proefdierkundig onderzoek structureel wordt uitbesteed.

Het uitbesteden van dit specifiek wetenschappelijk onderzoek leidt tot een drastische daling van het aantal protocollen benodigd om het proefdierkundig onderzoek binnen de eigen organisatie te kunnen continueren. Vanuit het oogpunt van efficiëntie en omdat de protocollen van het uitbestede onderzoek tevens door de vergunninghouder van het betreffende instituut erkend moeten worden, is ervoor gekozen alle onderzoeksprotocollen te laten beoordelen door de DEC van het instituut waaraan ook het specifiek wetenschappelijk onderzoek wordt uitbesteed.

Om deze reden is de DEC-Sanquin per 1 januari 2005 opgeheven. Per deze datum worden alle protocollen ter beoordeling aangeboden aan de externe DEC. Deze protocollen zullen hierdoor in de toekomst onderdeel uit gaan maken van het jaarverslag van de externe DEC.