

Jaarverslag 2012

Dierexperimentencommissie Utrecht

voor vergunninghouders Universiteit Utrecht
en Universitair Medisch Centrum Utrecht
en een aantal kleinere vergunninghouders

Colofon

Uitgave 2013
Dierexperimentencommissie Utrecht
p/a Universitair Medisch Centrum Utrecht
Huispost D01.343
Heidelberglaan 100
3584 CX Utrecht

Redactie
S. Oosterhoff en J.B. van Luipen

Fotografie
T. Dobber, UMC Utrecht, Facilitair Bedrijf, cluster Multimedia
N.J. Schoemaker, UU, Faculteit Diergeneeskunde, Gezelschapsdieren, (foto's papegaai Woody)
Medewerkers UMC en UU

Foto voorkant: papegaai Woody in testopstelling.

Vormgeving
Zweers Creatives

© DEC Utrecht
Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieren, opnamen of op enige andere manier, zonder voorafgaande schriftelijk toestemming van de uitgever.

Jaarverslag 2012

Dierexperimentencommissie Utrecht

voor vergunninghouders
Universiteit Utrecht
en
Universitair Medisch Centrum Utrecht
en
een aantal kleinere vergunninghouders

Inhoudsopgave

deel 1 - Jaarverslag

1. Inleiding 5
2. Plaats van de Dierexperimentencommissie (DEC) Utrecht in de om advies vragende organisaties 5
3. Taakomschrijving DEC 5
4. Samenstelling en werkwijze commissie 6
5. Vergaderingen: regulier en gezamenlijk 6
6. Scholing 7
7. Het bureau van de DEC 7
8. Kring waarvoor de commissie toetst 7
9. Financiering 7
10. Protocollen 8

Bijlage 1.1 Reglement DEC 31
Bijlage 1.2 Samenstelling DEC-Utrecht 35

deel 2 - Lekensamenvattingen

Kamer I 39
Kamer II 117
Kamer III 227

deel 3 - Overzicht behandelde DEC-aanvragen

Kamer I 307
Kamer II 331
Kamer III 367



Voorwoord

Geachte lezer,

Voor U ligt het jaarverslag van de Dier Experimenten Commissie (DEC) Utrecht ingesteld door de Universiteit Utrecht en het Universitair Medisch Centrum Utrecht. Het verslag is een verantwoording van de activiteiten van de DEC Utrecht over het jaar 2012. In het verslag zijn korte (leken)samenvattingen opgenomen van projecten die zijn aangevraagd in het verslagjaar. Daarnaast wordt een tweetal casussen weergegeven van afwegingen die gemaakt zijn door de DEC, en een casus over hoe een kleine wijziging wordt behandeld. Deze zijn in zekere mate illustratief voor hetgeen in de commissie aan de orde wordt gesteld. Ook dit jaar zijn illustraties aan het jaarverslag toegevoegd. Op deze manier hoopt de DEC meer inzicht te geven in welke impact de betreffende dierexperimenten voor de dieren heeft. Het zichtbaar maken van dilemma's is uitdrukkelijk de intentie van de DEC Utrecht, omdat het past bij de wens en de noodzaak om meer informatie over het belang van dierproeven te verschaffen aan de maatschappij. Dit is ook de reden dat dit jaarverslag niet alleen via de website van de DEC publiekelijk wordt gemaakt, maar ook breder op papier wordt verspreid richting de diverse belangenorganisaties.

Tot slot wens ik de lezer enig leesplezier toe.

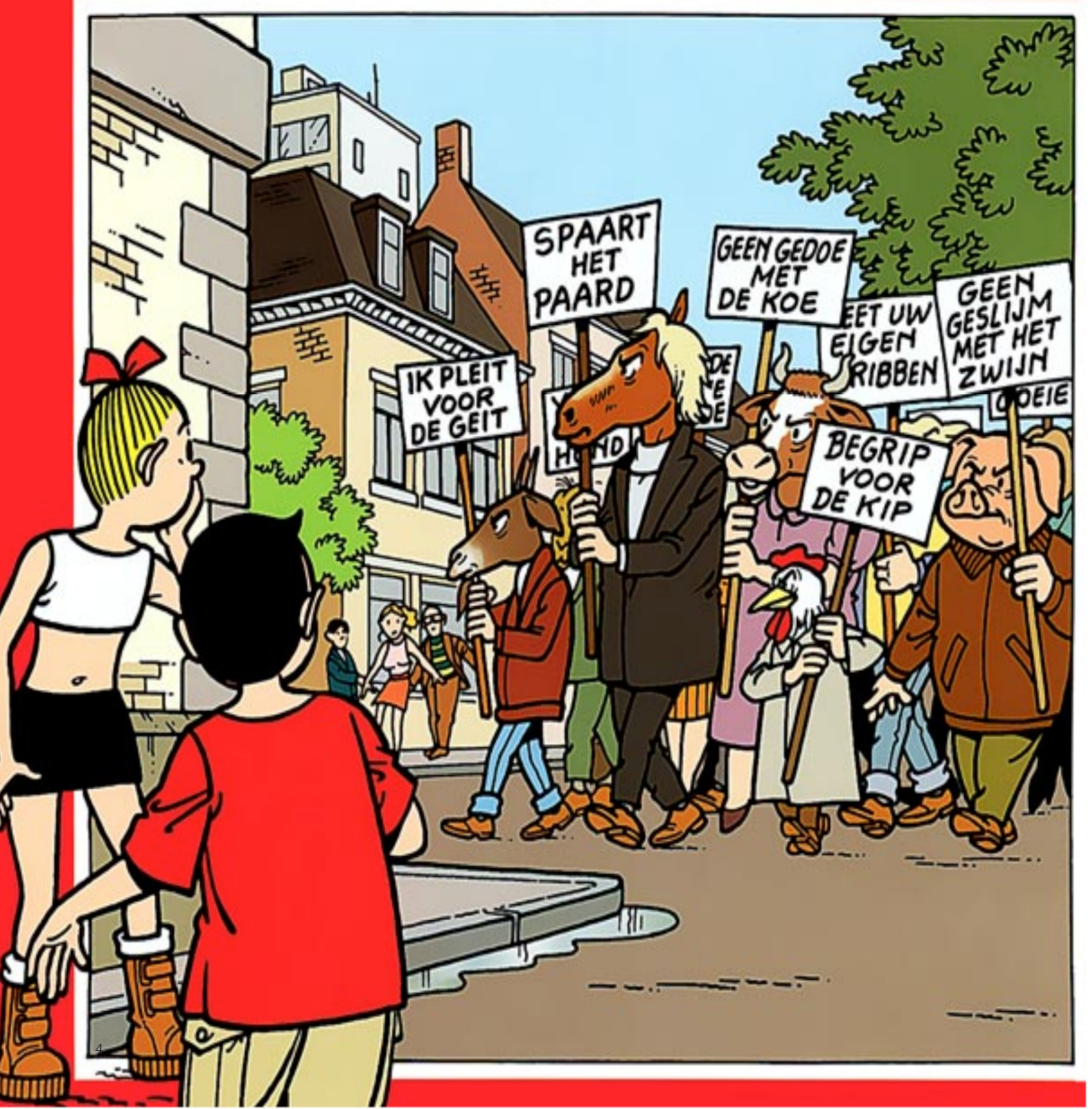
Prof. dr. B.J.M. Zegers, emeritus
Voorzitter DEC Utrecht

“Als een wezen lijdt, kan er geen enkele morele rechtvaardiging bestaan om geen rekening te houden met dat lijden.”

Peter Singer

1

Jaarverslag


SPAART HET PAARD
GEEN GEDOE MET DE KOE
GEEN GESLIJM MET HET ZWIJN
IK PLEIT VOOR DE GEIT
BEGRIP VOOR DE KIP

1. Inleiding

Experimenten met dieren werden al in de 5e eeuw voor Christus gedaan en richtten zich voornamelijk op het beschrijven van biologische systemen. In de 2e eeuw na Christus werden dierexperimenten gedaan die nog voor honderden jaren de basis voor de geneeskunde zouden vormen. Door het opkomende Christendom staakte de groei van de proefondervindelijke wetenschap en het was pas in de 15e eeuw dat wetenschappers er opnieuw van overtuigd raakten dat proefondervindelijk onderzoek belangrijker is dan een theoretische beschouwing. In de 18e eeuw en daarna werden dierproeven noodzakelijk geacht om vooruitgang te boeken in de medische wetenschap.

Al die tijd tot ver in de twintigste eeuw werd het dier gezien als instrument: essentieel om nieuwe medicijnen, vaccins en geneeswijzen te ontwikkelen, te produceren of te verbeteren, essentieel om onze kennis van biologische systemen zoals het lichaam te vergroten, de giftigheid te bepalen van bepaalde stoffen die wij in het dagelijkse leven gebruiken en essentieel voor het biomedisch onderwijs. Uiteindelijk hebben de vele discussies in Nederland in 1977 geleid tot de totstandkoming van de Wet op de dierproeven (Wod). Het was echter pas in de Wet op de Dierproeven van 1996 dat is vastgelegd dat bij het uitvoeren van dierproeven de intrinsieke waarde van het dier moet worden erkend. Dit betekent dat dieren met respect dienen te worden behandeld. Er moeten dus gegronde redenen zijn om proeven met dieren uit te voeren.

De ethische toetsing van dierexperimenteel onderzoek of onderwijs is pas na de herziening van de Wet op de Dierproeven in 1997 een wettelijke verplichting. Alhoewel de Raad van Bestuur van het UMC Utrecht (vroeger de faculteit Geneeskunde/Academisch Ziekenhuis Utrecht) in 1989 de initiatiefnemer was voor het instellen van een DEC (toen DEC-GNK, later gefuseerd met de DEC's van Diergeneeskunde, Scheikunde, Farmacie en Biologie), is de DEC in Utrecht de facto geen commissie van de vergunninghouder(s). De DEC functioneert als een onafhankelijke commissie die aan meerdere vergunninghouders advies kan uitbrengen; zo ook in Utrecht.

2. Plaats van de Dierexperimentencommissie (DEC) Utrecht in de om advies vragende organisaties

Iedere instelling die onderzoek of onderwijs doet met proefdieren moet hiervoor een vergunning hebben die wordt verleend door de Minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport. De onderzoeker die in het kader van deze vergunning dierproeven wil gaan verrichten, moet vóór de aanvang van de dierproef toestemming hebben gekregen van de vergunninghouder voor de uitvoering van de proef. De toestemming wordt verleend op basis van een advies van een Dierexperimentencommissie. In de regel nemen vergunninghouders het advies van een DEC over. De Universiteit Utrecht (UU) en het UMC Utrecht hebben ervoor gekozen om gezamenlijk één eigen Dierexperimentencommissie in het leven te roepen. In 2002 zijn de dierexperimentencommissie van de faculteiten Diergeneeskunde, Farmacie, Scheikunde en Biologie samengevoegd. In 2007 is deze DEC samengevoegd met de DEC van het UMC Utrecht/faculteit Geneeskunde.
Om de onafhankelijke positie van de DEC te waarborgen, moet de DEC door de Minister erkend zijn. In het reglement van de DEC (zie bijlage 1.1) is te vinden waaraan de DEC Utrecht moet voldoen qua samenstelling en deskundigheden. Zo mogen er in de DEC niet alleen maar leden zitten van de instelling zelf en mag de voorzitter geen dienstverband hebben met de vergunninghouder(s).
Per 1 januari 2011 opereert de DEC Utrecht onder de huidige naam (voorheen: DEC-ABC) aangezien het Academisch Biomedisch Cluster als entiteit is opgegaan in Utrecht Life Sciences.

3. Taakomschrijving DEC

Een dierexperimentencommissie (DEC) toetst alle aan haar voorgelegde experimenten in het kader van onderwijs en onderzoek, waarbij het gebruik van proefdieren is voorzien, aan de hand van de wettelijke regelingen zoals vastgelegd in de Wet op de dierproeven 1977 (Wod) en in het Dierproevenbesluit 1985. De DEC heeft een wettelijke

links: Illustratie uit Suske en Wiske, De koeiencommissie, door P. Geerts

basis gekregen in de gewijzigde Wod van 1996. Hierbij werd bepaald, dat het niet is toegestaan een dierproef te starten zonder positief advies van een erkende DEC. Een DEC conformeert zich aan het door de wetgever bepaalde standpunt dat dierproeven niet zijn toegestaan, tenzij vaststaat dat de verdere ontwikkeling van kennis, inzichten en technieken binnen de wetenschap niet mogelijk is zonder gebruik te maken van dierproeven. Daarbij staat de erkenning van de intrinsieke waarde van het dier voorop.

Een DEC toetst op basis van een onderwijs- of onderzoeksprotocol of het belang van de dierproef opweegt tegen de mate van ongerief welke het proefdier zal ondervinden. Indien er alternatieven bestaan is het verboden om gebruik te maken van dierproeven. Het ontwikkelen van alternatieven dient dan ook voortdurend de aandacht van iedere onderzoeker die met proefdieren werkt, te hebben. Indien het gebruik van proefdieren onvermijdbaar is, moet het welzijn zo min mogelijk worden geschaad. Het aantal proefdieren dient te worden beperkt tot het minimum benodigd voor het beantwoorden van de onderzoeks- en/of onderwijsvraag en het ongerief voor de dieren dient zo gering als mogelijk is te zijn.

4. Samenstelling en werkwijze commissie

De DEC Utrecht telde in december 2012 18 leden, voor het merendeel werkzaam in het UMC Utrecht of aan de Universiteit Utrecht. De commissie bestaat uit drie "Kamers", elk met een eigen aandachtsgebied (zie onder). Externe leden zijn onder meer afkomstig van het RIVM, TNO, andere academische centra en het Ethiek Instituut. De leden vertegenwoordigen een brede diversiteit aan disciplines, maar zijn in ieder geval deskundig op één van de gebieden zoals beschreven in de Wet op de dierproeven (Dierproeven, Alternatieven, Ethiek, Bescherming) en in het reglement van de DEC. In iedere kamer is een lid voorhanden met aandachtsgebied Biostatistiek en één lid functioneert voor alle kamers voor wat betreft kennis van toxicologie.

De commissie heeft haar werkwijze vastgelegd in een reglement (zie bijlage 1.1), welke in 2007 door het Ministerie is goedgekeurd. De DEC Utrecht heeft haar reglement in 2011 gewijzigd. Deze wijzigingen hebben betrekking op de naam van de commissie en de mandateringen. Voor de samenstelling van de commissie, zie bijlage 1.2.

a) Drie Kamers

In 2007 is de DEC Utrecht van start gegaan met drie Kamers. De drie Kamers zijn ingedeeld naar wetenschapsgebieden/disciplines. De commissieleden zijn op basis van hun specifieke deskundigheid en professionele achtergrond en belangstelling verdeeld over deze drie Kamers. De kamers functioneren zelfstandig. Afstemming tussen de Kamers is de taak van de voorzitter en secretaris die in alle kamers zitting hebben.

Overzicht indeling Kamers:

Kamer I: Hersenen en Gedrag, Beeldvorming, GGO's.
Kamer II: Hart/Longen, Vaten, Immunologie & Infectie.
Kamer III: Experimentele Oncologie, Endocrinologie en Voortplanting, Orthopedie, Heelkunde, Anesthesie, GDL-bedrijfsvoering, IRAS, Onderwijsaanvragen Diergeneeskunde, Voedingsexperimenten.

b) Werkwijze

De werkwijze van de DEC staat vermeld in het reglement (zie bijlage 1.1). Een uitgebreide toelichting op deze werkwijze (en op de DEC-formulieren) is te vinden op de website van de DEC: www.dec-utrecht.nl.

5. Vergaderingen: regulier en gezamenlijk

In 2012 is de DEC Utrecht 36 maal bijeen geweest, dat wil zeggen dat iedere Kamer 12 maal (1 maal per maand) projecten heeft beoordeeld. Daarnaast heeft er één gezamenlijke DEC-vergadering plaats gevonden. Tijdens deze bijzondere DEC-vergadering zijn geen specifieke DEC-aanvragen beoordeeld, maar zijn algemene onderwerpen bediscussieerd die samenhangen met het werkveld van de DEC.

Vaste agendapunten bij de reguliere vergaderingen zijn mededelingen, vaststellen verslagen, beoordeling van nieuwe protocollen, vervolgaanvragen en gewijzigde protocollen, beoordeling van reacties op vragen van de Kamer en NVDEC-gerelateerde zaken. Regelmatig worden

onderzoekers uitgenodigd om onderzoeksvoorstellen te komen toelichten (ook buiten de reguliere vergaderingen om), indien de DEC hieraan behoefte heeft voor haar besluitvorming.

Tijdens het gezamenlijk overleg op 29 februari 2012 zijn o.a. de volgende zaken aan de orde gesteld:

- Medewerker van het NCA, Alternatieven en de DEC.
- Extern lid DEC, Fokoverschotten.
- Discussie t.a.v. beleid isofluraan anesthesie protocol.
- Discussie t.a.v. beleid inschatting ongerief t.g.v. bijkomen.
- Discussie t.a.v. beleid perfusie.
- Discussie m.b.t. beleid dosering buprenorphine muis – rat.
- Discussie m.b.t. beleid verlenging van een positief advies middels kleine wijziging.

De bijeenkomst was goed bezocht en heeft tot concrete beleidsafspraken geleid.

6. Scholing

Leden van de DEC Utrecht nemen regelmatig deel aan de nascholingsdagen en introductiecursus voor nieuwe DEC-leden van de NVDEC en aan informatiebijeenkomsten van de Stichting Informatie Dierproeven, de NVP en diverse andere gremia. Ook heeft een aantal DEC-leden deelgenomen aan diverse cursussen en opleidingen:

- NVDEC NVP workshop “Toetsing Nieuwe Stijl” te Rijswijk (oktober)
- Biotechnische dagen (november)
- Cursus infection and immunity
- Master neuroscience and cognition, UU
- Master keuzevak Biostatistiek, Graduate School of Life Sciences, UU
- Voorjaarsvergadering beroepsgroep proefdierdeskundigen (april)
- Cursus AAALAC: gevolgen EU directive, Aken (september)
- BCLAS najaars symposium Brussel (oktober)
- AALAS symposium Minneapolis, USA (November)
- Art 9 cursus (als docent)

7. Het Bureau van de DEC

De DEC wordt ondersteund door de secretaris DEC Utrecht, en enkele student-secretaresses. Het Bureau draagt zorg voor de voorbereiding en verslaglegging van de vergaderingen. Ook handelen zij de administratieve afwikkeling van besluiten over ingediende onderzoeksprotocollen en de bijbehorende correspondentie af. De medewerkers van het Bureau zijn geen lid van de DEC.

Onderzoekers worden op de hoogte gehouden van nieuwe ontwikkelingen via de DEC-website, www.dec-utrecht.nl. In 2007 is gestart met de DEC nieuwsbrief die elektronisch naar alle proefdiercoördinatoren en andere betrokkenen wordt gestuurd en in 2011 is dit uitgebreid met mededelingen van de proefdierdeskundigen en de vergunninghouder. In 2012 is dit gecontinueerd.

8. Kring waarvoor de commissie toetst

De DEC Utrecht beoordeelt in principe alle aanvragen die bij haar binnenkomen. In de praktijk beperkt zich dit echter tot aanvragen van de vergunninghouders Universiteit Utrecht, het UMC Utrecht en van o.a. enkele kleinschalige biomedische bedrijven die het dierexperimenteel onderzoek verrichten in het Gemeenschappelijk Dierenlaboratorium (GDL) van de UU of daarbuiten.

9. Financiering

Voor de beoordeling van onderzoeksprotocollen brengt de DEC Utrecht geen kosten in rekening, tenzij het onderzoek gefinancierd wordt door een sponsor met winstoogmerk of wordt aangevraagd door een vergunninghouder anders dan de UU en/of het UMC Utrecht.

10. Protocollen

a) Algemeen

De proefdieraanvraag wordt door de onderzoeker/art. 9 functionaris ter advisering aan de DEC voorgelegd. De aanvraag dient vooraf wetenschappelijk getoetst te zijn door externe organisaties zoals NWO, collectebusfondsen etc. en/of door een onderzoekscommissie van de divisie/afdeling of onderzoeksinstituut. Het feit dat de wetenschappelijke toetsing adequaat heeft plaatsgevonden, wordt geborgd door de (elektronische) handtekening van de projectleider. Voor onderwijsprojecten geldt dat de toetsing vooraf plaats vindt door de relevante onderwijswerkgroepen.

Alle projecten werden, onafhankelijk van het ongerief, besproken in de plenaire vergadering van één van de drie Kamers van de DEC Utrecht. De kleine commissie is sinds de oprichting van de DEC Utrecht in 2007 opgeheven, omdat alle aanvragen plenair worden behandeld.

De aanvragen worden gedaan met behulp van een daartoe ontworpen digitaal formulier (zie www.dec-utrecht.nl).

De DEC beoordeelt de aanvragen o.a. op:

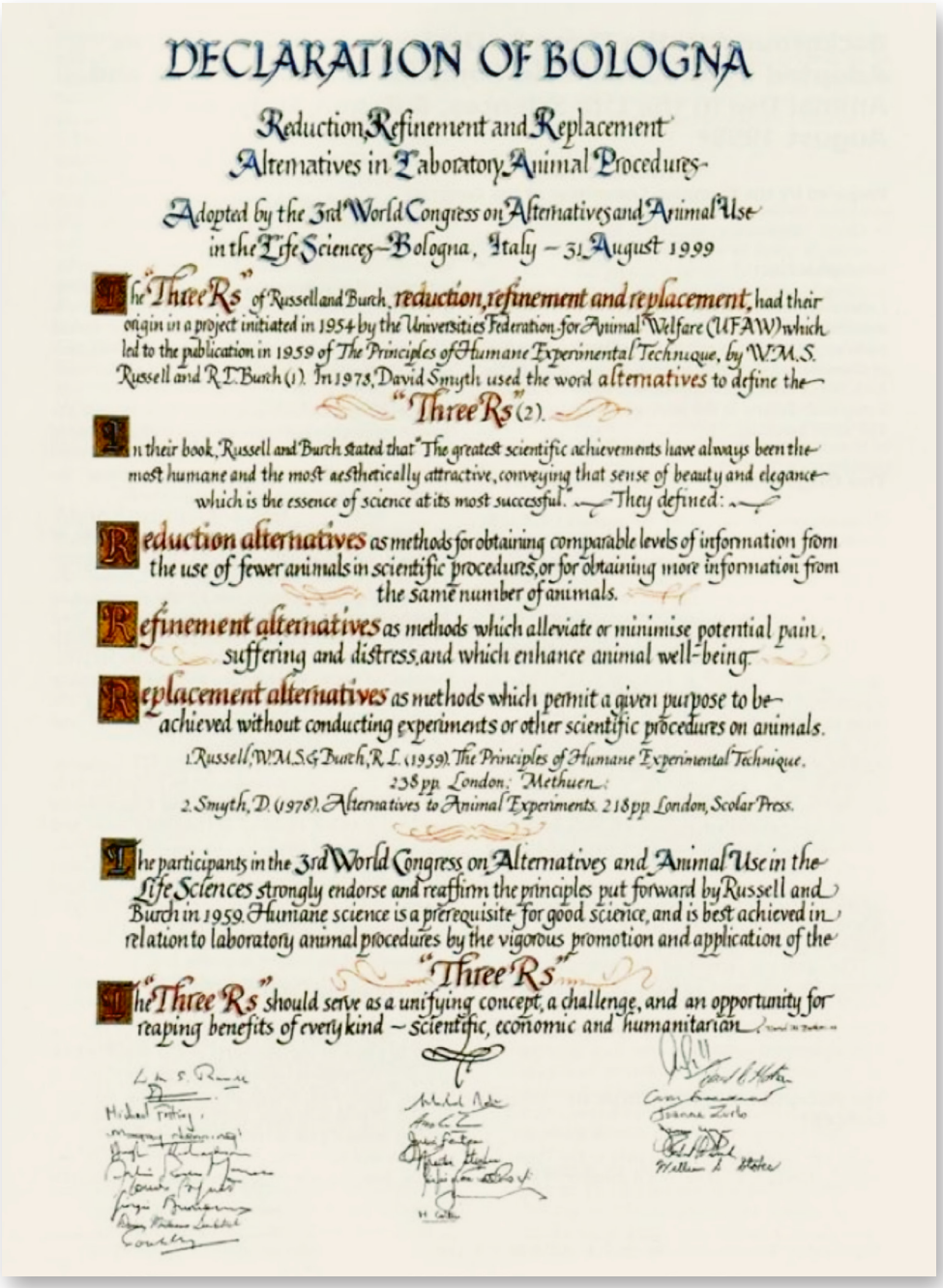
- Doel van het onderzoek of onderwijs: Wat kunnen de resultaten van het onderzoek of onderwijs ons leren? Welk probleem wordt hier opgelost? Wie heeft belang bij de uitkomst?
- Ethische afweging: Weegt het maatschappelijk en wetenschappelijk belang van het experiment op tegen het ongerief dat de dieren ten gevolge van het experiment ondervinden? Sinds 2012 wordt de onderzoeker in het formulier ook extra gevraagd naar zijn 'eigen ethische afweging'. Dit is ingevoerd omdat de DEC Utrecht graag wil dat een onderzoeker zijn eigen ethische afweging onder woorden brengt en over mogelijke dilemma's goed nadenkt. In 2013 zal deze extra vraag aan de onderzoeker worden geëvalueerd (studentenproject).
- Wetenschappelijke kwaliteit van het onderzoek: Is dit gewaarborgd en door wie?

Afbeelding rechts uit: The Three Rs and the Humanity Criterion by Michael Balls, an abridged version of The principles of Humane Experimental Technique by W.M.S. Russell and R.K. Burch.

3 R's

3 R's: Reduction, Refinement, Replacement

In 1959 schreven Russel en Burch het boek *The Principles of Humane Experimental Technique* (De principes van humaan wetenschappelijk onderzoek). Dit boek was een pleidooi voor het terugdringen van het proefdiergebruik. In dit boek introduceerden Russel en Burch de 3 R's: Reduction, Refinement & Replacement (vertaald: vermindering, verfijning en vervanging). De betekenis van het 3R's-principe is onder woorden gebracht in de Three Rs declaration of Bologna. Deze verklaring is opgesteld bij gelegenheid van het *3rd World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences*, gehouden in Bologna, Italië van 29 augustus tot 2 september 1999. Het 3R's-principe heeft in de hele wereld de praktijk van dierproeven fundamenteel beïnvloed. Sinds het boek van Russel en Burch is het proefdiergebruik afgenomen, door bewuster gebruik en wetgeving. In 1977 is Nederland een van de eerste landen die een wettelijke basis legt voor het gebruik van dierproeven door het invoeren van de Wet op de proefdieren (Wod), het 3R's-Principe is hierin opgenomen.



DECLARATION OF BOLOGNA

Reduction, Refinement and Replacement Alternatives in Laboratory Animal Procedures

Adopted by the 3rd World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences – Bologna, Italy – 31 August 1999

The "Three Rs" of Russell and Burch, **reduction, refinement and replacement**, had their origin in a project initiated in 1954 by the Universities Federation for Animal Welfare (UFAW) which led to the publication in 1959 of *The Principles of Humane Experimental Technique*, by W.M.S. Russell and R.L. Burch (1). In 1978, David Smyth used the word *alternatives* to define the "Three Rs" (2).

In their book, Russell and Burch stated that "The greatest scientific achievements have always been the most humane and the most aesthetically attractive, conveying that sense of beauty and elegance which is the essence of science at its most successful." They defined:

Reduction alternatives as methods for obtaining comparable levels of information from the use of fewer animals in scientific procedures, or for obtaining more information from the same number of animals.

Refinement alternatives as methods which alleviate or minimise potential pain, suffering and distress, and which enhance animal well-being.

Replacement alternatives as methods which permit a given purpose to be achieved without conducting experiments or other scientific procedures on animals.

1. Russell, W.M.S. & Burch, R.L. (1959). *The Principles of Humane Experimental Technique*. 238 pp. London: Methuen.
2. Smyth, D. (1978). *Alternatives to Animal Experiments*. 218 pp. London, Scolar Press.

The participants in the 3rd World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences strongly endorse and reaffirm the principles put forward by Russell and Burch in 1959. Humane science is a prerequisite for good science, and is best achieved in relation to laboratory animal procedures by the vigorous promotion and application of the "Three Rs".

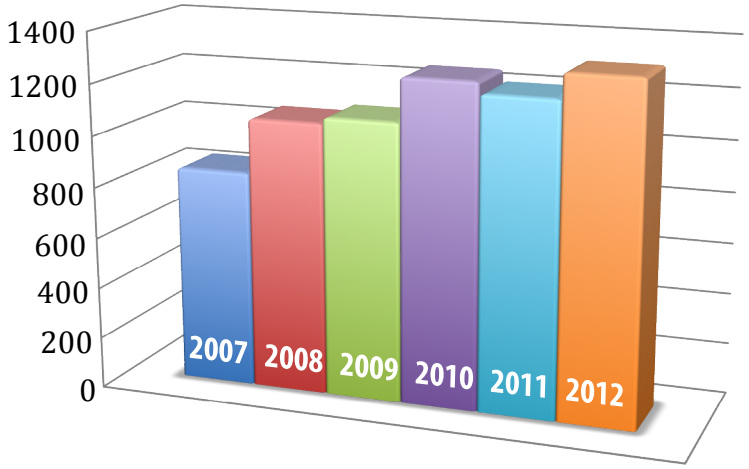
The "Three Rs" should serve as a unifying concept, a challenge, and an opportunity for reaping benefits of every kind – scientific, economic and humanitarian.

- Proefopzet: In een DEC-aanvraag geeft de onderzoeker aan wat hij precies wil onderzoeken, en hoe. De opleider geeft aan wat en wie hij gaat onderwijzen en hoe. Zo wordt inzichtelijk gemaakt welke proefdieren, proefgroepen met hoeveel dieren nodig zijn. Hoe de tijdlijn van het onderzoek of onderwijs eruit ziet etc.
- Experimentele handelingen: Dit zijn alle zaken die met de dieren gedaan worden, zoals observeren, wegen, het toedienen van stoffen, het afnemen van bloed etc.
- Herkomst van de dieren: Waar komen de dieren vandaan? Zijn ze genetisch gemodificeerd en/of eerder gebruikt?
- Verzorging en behandeling van de dieren: Is er sprake van groepshuisvesting? Is de omgeving verrijkt? Zo nee, waarom niet?
- Afwezigheid van eventuele reële alternatieven (vermindering, vervanging, verfijning, zie Declaration of Bologna): Welke alternatieve methoden zijn bruikbaar voor dit onderzoek of onderwijs? Hoe houdt de onderzoeker het aantal dieren zo klein mogelijk en bevordert hij de kwaliteit van leven van de dieren?
- Deskundigheid van de onderzoekers en dierverzorgers: Zijn diegenen die het onderwijs of onderwijs opzetten, uitvoeren en/of voor de dieren zorgen voldoende deskundig en bekwaam?

Voor haar advisering maakt de DEC ook gebruik van het advies van de proefdierdeskundige.
Deze functionaris houdt toezicht op het welzijn van de dieren in het dierenlaboratorium. Bij de DEC Utrecht worden alle nieuwe en vervolg aanvragen eerst gezien door de proefdierdeskundige.

b) Advisering
In 2012 werden in totaal 1314 (2011: 1217; 2010: 1261; 2009: 1090; 2008: 1065; 2007: 850) aanvragen behandeld. Zonder de kleine wijzigingen die door de proefdierdeskundigen of tijdens een reguliere DEC vergadering van een advies zijn voorzien waren dit er 609. Over 1079 aanvragen (2011: 1023; 2010: 1012; 2009: 474) werd direct positief geadviseerd, al dan niet met op- of aanmerkingen. Zonder kleine wijzigingen waren dit 308 aanvragen. Het

Aantal behandelde aanvragen over de jaren 2007-2012



gaat hierbij om nieuwe of vervolg aanvragen. De commissie heeft voor de overige aanvragen 149 maal een positief advies of een voorwaardelijk positief advies uitgebracht na (soms zeer uitvoerige) bijstelling van het experiment of na aanvullende informatie van de onderzoekers of alleen voor het uitvoeren van een pilot waarna terugrapportage diende te volgen. 27 Aanvragen zijn na discussie met de DEC nog aangehouden of hebben een intentie tot positief advies gekregen (zijn dus in 2012 niet van een advies voorzien), 6 aanvragen voor een kleine wijziging zijn van een negatief advies voorzien, 1 aanvraag is wegens administratieve redenen afgewezen en er zijn 36 terugrapportages ingediend. Verder zijn 3 adviezen van andere DEC's, na lokale toetsing, overgenomen. Dit betreft projecten die door onderzoekers van buiten Utrecht in het Utrechtse GDL wordt uitgevoerd.

Vanaf september 2011 is het beleid rond herhaalde aanvragen veranderd. Veelal werden herhaalde aanvragen ingediend om verlenging van de looptijd van het positief advies aan te vragen, wat ook verkregen kan worden door middel van een kleine wijziging. Aanvragen waarbij wijzigingen worden aangevraagd, die van dien aard zijn dat ze het verzoek tot een kleine wijziging overstijgen, dienen als vervolgaanvraag te worden ingediend. Op deze manier is het voor de onderzoeker en voor de DEC overzichtelijker.

In deel 3 van het jaarverslag is een overzicht gegeven van alle projecten per kamer waarover advies werd uitgebracht, waarbij per advies is vermeld:

a. het advies;
b. het doel van de proef;
c. de duur van de proef;
d. de periode waarvoor toestemming wordt verleend;
e. de eventuele voorwaarden in grote lijnen.

In deel 2 van het jaarverslag zijn van alle nieuwe en vervolg onderzoeksprojecten de lekensamenvattingen opgenomen, gegroepeerd naar de Kamer waarin ze behandeld zijn. Een nadere specificatie van het proefdiergebruik naar gebruikte diersoorten, aantallen en mate van ongerief is weergegeven in de registratie Proefdieren en Dierproeven van de Universiteit Utrecht/UMC.



Proefdiervrij

www.proefdiervrij.nl

c. Uitwerking drie casussen

Casus 1: Bacteriële ontstekingen veroorzaakt door Staphyloccus aureus bij koeien

Titel studie: Evasion Molecules in Staphylococcal Bovine Mastitis Vaccines- different adjuvancia and different application routes to increase the immune response
DEC nummer: 2012.II.09.136

Lekensamenvatting

Door Staphylococcus aureus geproduceerde eiwitten als basis van een entstof- de rol van verschillende dragerstoffen en toedieningsroutes op de afweerreactie van het rund

Achtergrond: Bacteriële ontstekingen veroorzaakt door Staphyloccus aureus komen veelvuldig voor bij mensen, maar ook bij koeien. Bij koeien is vaak de uier aangetast waardoor een uierontsteking ontstaat. De behandeling met antibiotica laat vaak maar een matig resultaat zien waardoor het welzijn van de koeien is aangetast en hun levensduur vaak verkort is. Daarom is het voorkomen van deze infectie van groot belang. Om ziekte door Staphylococcus aureus te voorkomen zou het mooi zijn om naast hygiene- en managementmaatregelen ook vaccins in te kunnen zetten. De vaccins die tot nu toe beschikbaar zijn, geven helaas nog onvoldoende bescherming. Er is nog steeds een aantal punten met betrekking tot het afweersysteem van de koe die onvoldoende begrepen worden. Bij mensen is bekend dat met behulp van dragerstoffen in het vaccin het soort afweerreactie kan worden beïnvloed, hetzij in de richting van aanmaak van specifieke cellen hetzij in de richting van aanmaak van grote hoeveelheden specifieke antilichamen. Beide afweerreacties zijn ook bekend bij het rund, maar welk type dragerstof welke reactie teweeg kan brengen is nog onduidelijk. Ook de toedieningsroute van een vaccin kan het type afweerreactie beïnvloeden, waardoor de keuze voor een andere route mogelijk tot een betere bescherming van de uier zou kunnen leiden. Daarnaast is er een strikte scheiding tussen koe en uier, welke 'bloed-uier-barrière' genoemd wordt, en ervoor zorgt dat een afweerreactie die in de koe heeft plaats gevonden niet ook direct voor een afweerreactie in de uier hoeft te zorgen. De precieze regulatie van de barrière is niet bekend. Meer inzicht in de functie zal helpen een effectiever vaccin te ontwikkelen.

Doel/hypothese: Het doel van deze studies is het door middel van verschillende dragerstoffen en toedieningsroutes verschillende afweerreacties bij koeien te initiëren om een voor vaccinatie tegen uierontsteking beter geschikte combinatie te identificeren. Daarnaast is het doel om hiermee meer inzicht in de functie, de selectiviteit en de regulatie van de bloed-uier-barrière te krijgen.

Globale aanpak vraagstelling: Deze studie bestaat uit een aantal deelvragen die één voor één zullen worden aangegaan. (1) Een voorbeeld eiwit wordt aan verschillende dragerstoffen (cel stimulerend/antilichaam stimulerend) gekoppeld en als entstof via verschillende routes (spier/neus/darm /uier) worden toegediend waarbij gekeken wordt in hoeverre het type afweerreactie per dragerstof en route verschilt. (2) Omdat er bij de mens en het varken een link tussen de lokale afweer in de darm en die in de melkklier beschreven is, is het opvangen van lymfe uit de dunne darm na vaccinatie erg interessant. Een bestaande techniek waarbij lymfevaten gecanuleerd worden, zal aangepast worden om deze toe te kunnen passen om darm lymfe op te kunnen vangen. In deze lymfe kan dan de lokale afweerreactie van de darm gemeten en vergeleken worden met de afweerreactie in de uier. (3) Om een beter inzicht in het functioneren van de bloed-uier-barrière te krijgen zullen bij 2 groepen koeien die verschillend lang aan de melk zijn (begin lactatie/midlactatie) antilichamen en afweercellen uit melk en bloed worden gezuiverd en gelabeld worden. Door deze in de bloedbaan van de koe terug te brengen kan in kaart gebracht worden of de translocatie willekeurig gebeurt of dat de gelabelde cellen/antilichamen in grotere aantallen in de melk teruggevonden kunnen worden. Voor studie 1, 2 en 3 is de biologische interactie tussen toegediende stoffen met het dier vereist. Zonder het gebruik van het doeldier kunnen deze vragen niet beantwoord worden.

In kamer II worden door de DEC alle aanvragen behandeld die te maken hebben met immunologie & infectie. Daardoor is in deze kamer veel expertise op dit gebied opgebouwd en dat merkt de onderzoeker door de vragen die aan hem of haar gesteld worden.

Eerste reactie van de DEC op deze onderzoeksaanvraag (fragment uit brief):

Aangehouden

De DEC is op dit moment nog niet in staat om uw aanvraag van een advies te voorzien. Graag nodigt de DEC u uit voor een gesprek op woensdag 17 oktober a.s. om 10:00 uur om uw aanvraag nader toe te lichten.

De DEC ontvangt dan graag uw reactie o.a. op de volgende punten:

- De DEC waardeert het dat u getracht heeft de DEC van voldoende informatie te voorzien, maar een en ander heeft contraproductief gewerkt waardoor de DEC moeite heeft de essentie uit uw aanvraag te destilleren. De DEC verzoekt u de aanvraag korter en bondiger te formuleren.
- Een en ander geldt ook voor de lekensamenvatting: graag inkorten.
- Het is de DEC onduidelijk hoe en waarom de canulatie van de lymfeknoop in de darmen antwoord kan geven op de vraagstelling van het onderzoek (hoe zit het met de bloed/uier barrière). Graag verhelderen
- C1: wat is er al bekend over de te gebruiken adjuvantia in andere proefdieren?
- C2 en C3: de aanpak en de ratio zijn, in relatie tot de vraagstelling, niet te doorgronden. Graag verhelderen.
- C2: De DEC vraagt zich af wat er gebeurt met de toegankelijkheid van de katheter gedurende de 4 tot 6 weken dat deze is ingebracht. Raakt de katheter niet verstopt en zo ja, hoe kunt u dat eventueel voorkomen of verhelpen? Dit dient u op te nemen in de aanvraag.
- C3, vraag 4b: de DEC verzoekt u deze vraag in te vullen. U dient tenslotte wel biologicals toe.

De onderzoeker heeft de DEC daarop schriftelijk, via de website, geantwoord als volgt (zie volgende pagina).

Geachte leden van de DEC,

Graag zullen wij de aanvraag komen toelichten op 17 oktober. In onderstaand stuk hebben wij alvast de aanvraag ingekort en de onduidelijkheden toegelicht. De aanpassingen zijn in deze reactie puntsgewijs genoemd en waar nodig in de DEC aanvraag aangepast.

- De DEC aanvraag is zo veel mogelijk ingekort. Maar aangezien het een aanvraag met 3 is er naar mijn mening wel een wat uitgebreidere uitleg dan gebruikelijk nodig. Ik hoop dat de DEC het daarover met mij eens is.
- Ook de lekensamenvatting is ingekort.
- C2: In de literatuur wordt het mucosale immuunsysteem onderverdeeld in verschillende
- compartimenten. Deze functioneren deels onafhankelijk van elkaar maar er vindt ook uitwisseling van gesensibiliseerde cellen tussen bepaalde slijmvliezen plaats. een duidelijke link bestaat er tussen het darmslijmvlies en de melkklier. Dit is bij mensen beschreven waar bv orale vaccinatie van moeders wordt toegepast om baby's tegen cholera via de moedermelk te beschermen. Om deze link bij het rund te onderzoeken zou een systeem waarbij de immuunrespons in de darm direct met diegene in de uier vergeleken zou kunnen worden erg waardevol zijn. Daarom is er in eerste instantie een pilotstudie gepland om de methode te testen en ook om een indruk te krijgen in hoeverre er ook bij het rund sprake is van een entero-mammaire link.
- C3: Het isoleren, labelen en terug spuiten van eigen witte bloedcellen en antilichamen uit bloed en melk bij koeien geeft informatie over de manier waarop deze over de bloed-uier-barrière getransporteerd worden. Als dezelfde cellen en antilichamen weer teruggevonden worden in de melk wijst dit op een selectief proces waarbij deze cellen/antilichamen op een bepaalde manier gepredisponeerd zijn voor de translocatie. Betreft het een random proces zullen zowel gelabelde bloed als ook melk cellen/antilichamen in de melk teruggevonden worden. Omdat het bekend is dat de bloed-uier-barrière gedurende de droogstand en de lactatie verandert is een vergelijking tussen koeien begin lactatie en midlactatie gepland. Vind er daadwerkelijk een selectie proces plaats kan dit in een volgende studie onderzocht worden en mogelijk gebruikt worden om de translocatie tijdens vaccinatie te beïnvloeden.
- 1. o/w emulsie met saponine complex: Dit is een plantaardige glucoside welke een duidelijke immuunrespons met een bias naar Th1 en cytotoxische T-lymfocyten respons in muizen en mensen opwekt.
  2. o/w emulsie met gel verdikker: Dit is een mineral oil adjuvans met vitamine E gecombineerd en zorgt hoofdzakelijk voor een humorale immuunrespons (Th2 bias).
  3. o/w emulsie met anionic polysaccharide die met name zou moeten leiden tot een goede mucosale immuun respons. Deze informatie is ook toegevoegd aan de aanvraag zelf.
- Deze informatie is toegevoegd aan de 4a van aanvraag C2 en C3. Hopelijk zijn ratio en aanpak nu duidelijk.
- De canule loopt maximaal 3 weken zoals in de proefopzet beschreven is omdat er in dit experiment geen booster vaccinatie zal worden toegediend. Omdat er na plaatsing eigenlijk een continue stroom van lymfe zal optreden, welke met behulp van steriele flessen zal worden opgevangen, is het risico voor verstopping van de canule erg klein. Deze informatie is verduidelijkt in de aanvraag.
- Deze informatie is toegevoegd.

De schriftelijke antwoorden van de onderzoeker brachten al meer duidelijkheid, maar bepaalde aspecten kon de DEC nog steeds niet goed doorgronden. Op 17 oktober 2012 is de onderzoeker tijdens de DEC vergadering langs gekomen om aan de DEC-leden van kamer II het onderzoek nader toe te lichten en de door de DEC gestelde vragen te beantwoorden. De volgende punten zijn tijdens dat gesprek besproken (fragment uit notulen):

V: *C1: De onderbouwing m.b.t. de keuze van het vaccin en adjuvantia is de DEC nog onduidelijk.*
A: De keuze van de adjuvantia berust op ervaring en uitgevoerde veiligheidsstudies. Tevens berust de keuze op het

doel van het aanspreken van een bepaalde tak van het immuunsysteem. Deze adjuvantia zijn reeds gebruikt in runderen maar de adjuvantia in deze specifieke samenstelling nog niet.

V: *C2: De onderbouwing over de wijze van canulatie van de lymfeknoop is de DEC nog onduidelijk.*

A: De afferente baan van de lymfeknoop is niet te canuleren door de smalle diameter. De efferente baan is wel te canuleren alleen hier is de samenstelling van de lymfe anders doordat er al een immuunrespons heeft plaatsgevonden in de lymfeknoop. Door de lymfeknoop te verwijderen zoeken de uiteinden van de afferente en de efferente baan elkaar op. Op deze manier kan er gecanuleerd worden uit de afferente baan zonder tussenkomst van de lymfeknoop.

V: *C3: De DEC vraagt zich af of het labelen en terug spuiten van antistoffen wel zinvol is bij een niet geïnfecteerd dier. Tevens vraagt de DEC zich af of de mate van labeling geen invloed heeft op de permeabiliteit van de bloed-uier-barrière. Dienen niet eerst de cellen uit de uier geanalyseerd te worden?*

A: Enkele uren na een mastitis is er geen bloed-uier-barrière meer. Hierdoor kan dit onderzoek niet worden uitgevoerd bij geïnfecteerde dieren. Op het moment dat men cellen direct uit de uier haalt en analyseert zegt dit iets over wat er op dat moment voor cellen in de uier zitten. Het is dan echter nog onduidelijk of dit een specifieke subpopulatie is of dat de cellen ergens anders vandaan komen. Dit willen onderzoekers graag ophelderen door het labelen en terug spuiten van de cellen.

Aan de hand van het gesprek heeft de DEC de vergunninghouder geadviseerd een positief advies met vraag af te geven.

Onderzoeksplan:	Evasion Molecules in Staphylococcal Bovine Mastitis Vaccines- different adjuvancia and different application routes to increase the immune response
DEC-nummer:	2012.II.09.136
Deelvergunningsnr.:	10803
Advies d.d. 17-10-2012:	Positief advies tot 1 november 2013 met vraag
Aantal en soort:	C1: 96 vrouwelijke runderen, C2: 4 vrouwelijke runderen en C3: 8 vrouwelijke runderen
Geldstroom:	intern
Status:	nieuw

Behandeling:
☑ in DEC-vergadering d.d. 17 oktober 2012
☐ na advies proefdierdeskundige
☐ ambtelijke afhandeling
☐ anders:

De DEC verzoekt de vergunninghouder het volgende aan de onderzoeker voor te leggen.
De DEC ontvangt graag nog wel voor 1 december a.s. uw reactie op de volgende punten:

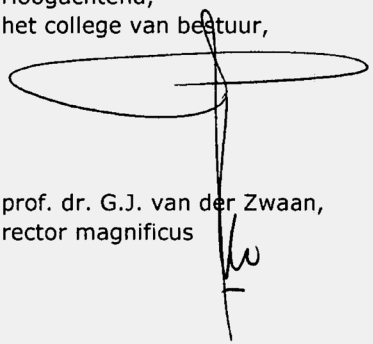
- De DEC dankt u voor uw verhelderende toelichting tijdens de vergadering van 17 oktober jl. De DEC ziet graag dat u de toelichting m.b.t. de wijze van canulatie van de lymfeknoop ook nog in het formulier vermeldt. Indien mogelijk graag verhelderen door middel van een tekening.

De vergunninghouder heeft dit advies overgenomen en toestemming gegeven voor uitvoering van dit experiment. (fragment uit brief).

Op 19 oktober 2012 heeft de dierexperimentencommissie (DEC) aan het college van bestuur advies uitgebracht over uw onderzoeksproject *Evasion Molecules in Staphylococcal Bovine Mastitis Vaccines- different adjuvancia and different application routes to increase the immune response*, DEC nummer 2012.II.09.136. De DEC is tot de conclusie gekomen dat het belang van het onderzoek opweegt tegen het ongerief voor de dieren en geeft een positief advies. Een afschrift daarvan treft u bijgevoegd aan.

Het college van bestuur is van mening dat de DEC op zorgvuldige wijze tot haar standpunt is gekomen. Conform het advies van de DEC verleen ik u daarom bij deze toestemming voor het verrichten van dierproeven in het kader van bovengenoemd onderzoeksproject. Ik wijs u erop, dat u bij eventuele wijzigingen in de aard van het onderzoek - met name als het gaat om de gebruikte experimentele technieken, aantal dieren, soort dieren en dergelijke - onmiddellijk opnieuw een oordeel van de DEC dient te vragen. Daarnaast dient u er zelf voor zorg te dragen dat C-deel en werkprotocol met elkaar in overeenstemming zijn.

Hoogachtend,
het college van bestuur,



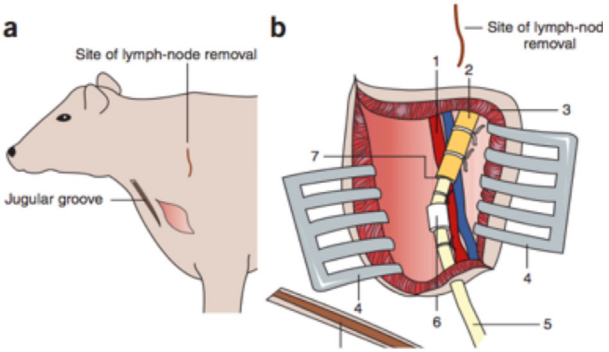
prof. dr. G.J. van der Zwaan,
rector magnificus

Ondanks het reeds gegeven positieve advies ontvangt de DEC de mondelinge toelichting met betrekking tot het canuleren van de lymfeknoop graag ook nog op schrift. Om die reden heeft de DEC in de brief nog een vraag voor de onderzoeker opgenomen. Deze vraag belemmert niet de voortgang van het onderzoek, maar de DEC verwacht wel dat de vraag nog tijdig beantwoord zal worden. De onderzoeker heeft de DEC daarop schriftelijk, via de website, geantwoord als volgt.

Geachte leden van de DEC commissie,

Bedankt voor het positieve advies voor onze dierproeven. Om uw vraag met betrekking tot de canulatie van lymfeknopen duidelijk toe te lichten hebben wij een publicatie toegevoegd (zie bijlage) waarin de procedure voor de prescapulaire huidlymfknoop bij het kalf duidelijk beschreven wordt inclusief een schematische tekening. Wij hopen dat dit als toelichting voldoet zoals u dat voor ogen had.

Figure 1 | Cannulation of a pseudoafferent superficial cervical lymph vessel of a calf. **(a)** Lateral view of a calf to show the site of incision; orientation is provided by the jugular groove and the site of superficial cervical lymph node removal. **(b)** **(1)** Superficial cervical artery and vein; **(2)** superficial cervical lymphatic; **(3)** cut edge of brachiocephalicus muscle; **(4)** retractor; **(5)** catheter exiting through skin incision; **(6)** collar glued to catheter to aid fixation with ligatures; and **(7)** catheter exiting lymphatic vessel. Two ligatures are placed around the lymphatic vessel and catheter. Two further ligatures are used to anchor the catheter to the underlying fascia.



Afbeelding: Hope, J.C., Howard, C.J., Prentice, J. & Charleston, B., (2006), Isolation and purification of afferent lymph dendritic cells that drain the skin of cattle, *Nature Protocols*, vol. 1 no. 2, blz. 982-987

Reactie van de DEC:

De DEC dankt u voor de reactie. U heeft al een positief advies voor deze aanvraag ontvangen. De DEC verzoekt u wel dit soort gegevens voortaan in het project op te nemen.

Opmerking:
De DEC verzoekt u contact op te nemen met de art. 14 functionaris om hem mee te laten kijken bij de canulatie van de lymfeknoop.

Casus 2: Parkinson en het effect van voedselbehandelingen

Titel studie: Effects of nutritional intervention on a PD mouse model induced with pesticide rotenone
DEC nummer: 2012.I.10.102

Onderzoek naar het effect van verschillende voedselbehandelingen in een muismodel met de ziekte van Parkinson (PD)

Achtergrond: De ziekte van Parkinson (PD) is een ziekte die gekenmerkt wordt door stoornissen in het bewegingsapparaat (traagheid, verminderd bewegen, stijfheid en beven). Echter, PD patiënten ondervinden talrijke andere symptomen (zoals waarnemings-, slaap-, psychiatrische problemen en bovenal problemen aan het spijsverteringskanaal) alvorens de stoornissen in het bewegingsapparaat optreden. Deze "non-motorische" symptomen staan op dit moment centraal binnen onderzoek naar de oorzaak van PD. In voorgaande experimenten hebben we aangetoond dat ons muismodel met PD zowel de stoornissen vertoond van het bewegingsapparaat alsook van het spijsverteringskanaal. Er is uitgebreid onderzoek gedaan naar de positieve effecten van voedingscomponenten bij hersenziektes. Wij zijn ervan overtuigd dat behandeling van ons PD-muismodel met bepaalde voedingscomponenten zal leiden tot vermindering van de stoornissen in het bewegingsapparaat en het spijsverteringskanaal.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om ontstekingen en afbraak van hersencellen in kaart te brengen, dat optreedt na induceren van PD in de muizen. Daarnaast willen we meer te weten komen over de veranderingen binnen het spijsverteringskanaal. Er wordt verwacht dat de behandeling met voedingscomponenten zal leiden tot vermindering van de stoornissen in het bewegingsapparaat en het spijsverteringskanaal.

Globale aanpak vraagstelling: Het diermodel wordt geïnduceerd door toediening van rotenone in het brein. Rotenone is een toxische stof (een pesticide) die aangrijpt in een proces dat ook bij de ziekte verstoord is. Bovendien hebben epidemiologische studies een correlatie laten

Rotarod testopstelling.



zien tussen blootstelling aan dit pesticide en het risico op het krijgen van PD. Het is eerder aangetoond dat infusie van rotenone in het brein de symptomen van het bewegingsapparaat kan veroorzaken. We gaan in deze aanvraag ook non-motorische symptomen van de ziekte onderzoeken.
De eerste reactie van de DEC op deze onderzoeksaanvraag betreft met name vragen gericht op het te gebruiken Parkinson model (fragment uit brief):

Aangehouden, uitnodiging voor gesprek.

De DEC is op dit moment nog niet in staat om uw aanvraag van een advies te voorzien en nodigt u graag uit voor een gesprek op 7 november a.s. om 10:00 om uw aanvraag nader toe te lichten.

De DEC ontvangt graag uw reactie op de volgende punten:

- De DEC ziet deze aanvraag als een vervolgstudie. De DEC ontvangt dan ook graag de resultaten van de vorige studie. Zo heeft de DEC gediscussieerd over uw waarneming dat er relatief weinig effecten op de motorfunctie worden gevonden terwijl, u deze wel gebruikt als read out.
- De DEC ontvangt graag meer informatie over de samenstelling van het bijzondere voedingsmengsel. Wat zijn deze componenten?
- Deel A vraag 5: Hier formuleert u 3 doelen maar op het eerste doel wordt in de aanvraag niet nader ingegaan. De DEC verneemt graag alsnog hoe het eerste doel wordt uitgevoerd in dit model.
- De DEC vraagt zich af of de concentratie rotenone hoog genoeg is gezien de geringe motoreffecten. Tevens vraagt de DEC zich af of de rotenone niet bilateraal moet worden toegediend.
- Aangezien u amfetamine in uw vorige aanvraag niet heeft meegenomen, vraagt de DEC zich af of de amfetaminetest niet eerst getest moet worden. Graag uw visie.
- De DEC vraagt zich af welke gedragsparameters worden gemeten en of dit effect heeft op de wijze van berekening van het aantal dieren. Graag uw toelichting.
- Deel B vraag 3a: De standaard deviatie en effect size zijn hier niet weergegeven. De DEC verzoekt u dit alsnog te doen.
- Deel C1 vraag 4c: De DEC is van mening dat procedure 1 uit de tabel kan worden gehaald omdat deze handeling geen ongerief met zich meebrengt.
- Deel C1 vraag 4c: Er kunnen maximaal 8 procedures in de tabel worden opgenomen. De amphetamine en apomorphine challenge kunnen in de tabel worden samengevoegd. Op deze manier kan de euthanasie worden opgenomen in de tabel.
- Deel C1 vraag 4c: De DEC verzoekt u om het toedienen van rotenone weer te geven in de tabel.
- Deel C1 vraag 4a punt 5: U spreekt hier over gedragstesten. De DEC vraagt zich af welke gedragstesten u hier bedoelt.
- De DEC verzoekt u om ervoor te zorgen dat de handelingen (en nummering) in C4a en C4c met elkaar overeenkomen.

Naast het gesprek heeft de onderzoeker ook schriftelijk uitvoerig antwoord gegeven op de vragen van de DEC.
Schriftelijke reactie onderzoeker:

Dear DEC committee,
Thank you for your questions and comments. I hope I can solve your doubts with the following answers.

V: De DEC ziet deze aanvraag als een vervolgstudie. De DEC ontvangt dan ook graag de resultaten van de vorige studie. Zo heeft de DEC gediscussieerd over uw waarneming dat er relatief weinig effecten op de motorfunctie worden gevonden terwijl, u deze wel gebruikt als read out.
A: In our previous experiment we have shown a significant difference in motor function between control animals and animals treated with 2,7 ug/ml rotenone 21 days after surgery (see attachment with results).

V: De DEC ontvangt graag meer informatie over de samenstelling van het bijzondere voedingsmengsel. Wat zijn deze componenten?
A: The active food contains circulating phosphatide precursors, uridine (as UMP) and fish oil. It has been previously used by Cansev M. et al., 2008.

V: Deel A vraag 5: Hier formuleert u 3 doelen maar op het eerste doel wordt in de aanvraag niet nader ingegaan. De DEC verneemt graag alsnog hoe het eerste doel wordt uitgevoerd in dit model.
A: The first goal I described was : Mapping neuroinflammatory and neurodegenerative mechanism after PD induction with pesticide rotenone. We will measure immune parameters and neurodegeneration in the gut and the brain by staining both tissues using different antibodies. Anti- CD3 and neutrophil infiltration ab are used in both tissues. TH+ cells are studied in the brain in order to follow neurodegeneration produced by rotenone.

V:De DEC vraagt zich af of de concentratie rotenone hoog genoeg is gezien de geringe motoreffecten. Tevens vraagt de DEC zich af of de rotenone niet bilateraal moet worden toegediend.
A: We have validated our model using 2,7 ug/ml rotenone injected unilaterally. We have shown motor dysfunction and gut problems 21 days after surgery (see attachment with results). Bilateral lesions are not reported to be valid since survival rate is low.

V: Aangezien u amfetamine in uw vorige aanvraag niet heeft meegenomen, vraagt de DEC zich af of de amfetaminetest niet eerst getest moet worden. Graag uw visie.
A: Both amphetamine and apomorphine test have been validated by a group we are collaborating with at Danone research (Dec number DAN 177, January 15th 2010). We believe that these tests are much more sensitive than the rotarod test and it also gives more information about the mechanism of action. We will be able to see if the mechanism is pre or post-synaptic. Furthermore, for the sake of completeness, we use three doses of each substance. The rotational behavior test outcome will be based on the three doses using a Latin square design.

V:De DEC vraagt zich af welke gedragsparameters worden gemeten en of dit effect heeft op de wijze van berekening van het aantal dieren. Graag uw toelichting.

A: The Behavioral tests we refer to are the rotarod test and the rotational behavior tests upon amphetamine and apomorphine treatment. This is explained in the DEC application.

V: Deel C1 vraag 4c: De DEC is van mening dat procedure 1 uit de tabel kan worden gehaald omdat deze handeling geen ongerief met zich meebrengt.
A: We have followed your advice, procedure 1 is deleted.

V: Deel C1 vraag 4c: Er kunnen maximaal 8 procedures in de tabel worden opgenomen. De amphetamine en apomorphine challenge kunnen in de tabel worden samengevoegd. Op deze manier kan de euthanasie worden opgenomen in de tabel.
A: We have done it.

V:Deel C1 vraag 4c: De DEC verzoekt u om het toedienen van rotenone weer te geven in de tabel.
It is done, we have now in total 8 procedures.V: Deel C1 vraag 4a punt 5: U spreekt hier over gedragstesten. De DEC vraagt zich af welke gedragstesten u hier bedoelt.
V: De DEC verzoekt u om ervoor te zorgen dat de handelingen (en nummering) in C4a en C4c met elkaar overeenkomen. C1. 4a 5.
A: The behavioral tests we are talking about are the rotarod test and the rotational behavior test (upon amphetamine or apomorphine treatment). We have also called it amphetamine and apomorphine challenges. From now on we will refer to it as ROTATIONAL TEST.

De schriftelijke antwoorden hebben voor de DEC al veel verhelderd. Tijdens het gesprek met de DEC licht de onderzoeker het te gebruiken Parkinson model nog nader toe met behulp van enkele sheets. Eén enkele vraag blijft echter onbeantwoord en is derhalve na het gesprek nog aan de onderzoeker voorgelegd.

Intentie positief advies, ambtelijk afhandelen mogelijk.

De DEC erkent dat het belang van uw onderzoek opweegt tegen het ongerief voor de dieren en heeft de intentie deze aanvraag van een positief advies te voorzien.

De DEC ontvangt graag uw reactie op het volgende punt:
De DEC vraagt zich af waarom er is gekozen is voor non-parametrische testen in plaats van parametrische testen?
Er wordt immers op basis van de door u meegestuurde grafieken wel continue gemeten. De DEC ontvangt graag uw nadere motivatie hiervoor en indien nodig een nieuwe power analyse en herberekening van het aantal dieren.

De onderzoeker heeft hier als volgt op geantwoord:

Dear DEC committee,

We need 4 different groups in our experiment, animals treated with vehicle, animals treated with 2.7ug/Kg rotenone, each group treated with control or active diet. Analysis of variance (ANOVA) will be used to test significant differences between means. Post hoc test will be used to compareindividual sets of means.
In previous test we have shown that the time spend on the wheel (rotarod test) is normally distributed with a standard deviation of 70 seconds, a difference of 145s is considered relevant.
Statistics were carried out using STATISTICA v8.0.
alpha= 0.05
power= 0.8
Min sample size needed= 10
4x10= 40 mice

Deze vraag met bijbehorend antwoord heeft geleid tot een reductie van het aantal benodigde dieren (40 i.p.v. 48 muizen). De DEC heeft de vergunninghouder hierna geadviseerd een *positief advies* af te geven.

Onderzoeksplan	: Effects of nutritional intervention on a PD mouse model induced with pesticide rotenone
DEC-nummer	: 2012.I.10.102
Deelvergunningsnr.	: 10858
Advies d.d. 12-11-2012	: Positief advies tot 1 december 2013
Aantal en soort	: C1: 40 C57BL/6J mannelijke muizen
Geldstroom	: intern
Status	: nieuw

Behandeling:
☑ in DEC-vergadering d.d. 7 november 2012
☐ na advies proefdierdeskundige
☑ ambtelijke afhandeling
☐ anders:

In Utrecht passeren alle adviezen van de DEC de vergunninghouder. De vergunninghouders tekenen zelf de toestemmingsbrieven. Indien noodzakelijk wordt door de DEC aan de vergunninghouder een aanvullende toelichting gegeven op een advies. Zie de toestemmingsbrief van de vergunninghouder hieronder m.b.t. deze aanvraag.

Op 12 november 2012 heeft de dierexperimentencommissie (DEC) aan het college van bestuur advies uitgebracht over uw onderzoeksproject *Effects of nutritional intervention on a PD mouse model induced with pesticide rotenone*, DEC nummer 2012.I.10.102. De DEC is tot de conclusie gekomen dat het belang van het onderzoek opweegt tegen het ongerief voor de dieren en geeft een positief advies. Een afschrift daarvan treft u bijgevoegd aan.

Het college van bestuur is van mening dat de DEC op zorgvuldige wijze tot haar standpunt is gekomen. Conform het advies van de DEC verleen ik u daarom bij deze toestemming voor het verrichten van dierproeven in het kader van bovengenoemd onderzoeksproject. Ik wijs u erop, dat u bij eventuele wijzigingen in de aard van het onderzoek - met name als het gaat om de gebruikte experimentele technieken, aantal dieren, soort dieren en dergelijke - onmiddellijk opnieuw een oordeel van de DEC dient te vragen. Daarnaast dient u er zelf voor zorg te dragen dat C-deel en werkprotocol met elkaar in overeenstemming zijn.

Hoogachtend,
het college van bestuur,

prof. dr. G.J. van der Zwaan,
rector magnificus

Foto's volgende pagina: De rotarod test is een test om de motorische vaardigheden te meten. Met deze test wordt gekeken hoe lang de muis op een draaiende balk zijn balans kan houden. De tijd dat de muis op de roterende staaf blijft staan is een maat voor de balans, coördinatie, conditie en motor-planning.
Enkele dagen voor de test is operatief rotenone in het brein aangebracht om Parkinson te induceren, vandaar de kale plek tussen de oren.





Casus 3: Hoe behandelt de DEC Utrecht kleine wijzigingen?

Het is mogelijk dat lopende het onderzoek het besef ontstaat dat een aanpassing van het geplande protocol gewenst of noodzakelijk is. In dat geval dient de onderzoeker een aanvraag voor een kleine wijziging in te dienen. Deze aanvraag wordt naar de proefdierdeskundige verzonden. De proefdierdeskundige zal vervolgens bepalen of de wijziging binnen zijn mandaat valt en dus zelf de aanpassing kan afhandelen.
De wijziging valt binnen het mandaat van de proefdierdeskundige indien:

- De aanpassing in de procedure niet gebaseerd is op een wezenlijke verandering van de vraagstelling(en).
- De aanpassing beperkt is tot maximaal 20% van het eerder door de DEC toegewezen aantal extra dieren.
- De aanpassing een uitbreiding van de looptijd van het positief advies betreft die zich beperkt tot maximaal 12 maanden.
- De wijziging niet leidt tot een andere inschatting van het totale ongerief.

Een verzoek voor een wijziging dient altijd via de website van de DEC te worden ingediend, het verzoek moet goed worden beargumenteerd en de wijziging moet worden toegevoegd aan de desbetreffende aanvraag.

Indien de wijziging gepaard gaat met gelijkblijvend ongerief of leidt tot een reductie van het ongerief, wordt het advies van de proefdierdeskundige rechtstreeks opgenomen in het DEC-archief, toestemming van de DEC is dan niet nodig.

In alle andere gevallen dient de DEC voor deze wijziging nog wel toestemming (een positief advies voor wijziging) af te geven. Een advies van de proefdierdeskundige wordt dan voorgelegd aan de secretaris van de DEC die het advies procedureel controleert en die, (in het geval van kleine wijzigingen) gemandateerd is door zowel de vergunninghouder van de UU, als de vergunninghouder van het UMC Utrecht om namens de vergunninghouders het advies van de proefdierdeskundigen over te nemen en de wijziging van een positief advies te voorzien.

In onderstaand voorbeeld heeft de onderzoeker, naast het ingevulde formulier aanvraag kleine wijziging, ook nog een korte opmerking geplaatst:

Geachte DEC (of artikel 14 proefdierdeskundige)

Graag zou ik het verzoek willen doen voor het verlengen van de looptijd van het onderzoek naar fourageerverrijking bij grijze roodstaart papegaaien.
In het kleine wijzigingsformulier vind u de informatie betreffende de wijziging. Mochten er aanvullende vragen zijn, of verdere acties nodig dan hoor ik dit graag.

Met vriendelijke groeten,

Het (online) advies van de proefdierdeskundige aan de DEC ziet er als volgt uit:

Verzoek amendement protocol DEC 2011.I.02.018
Verantwoordelijk onderzoekster: X

Beste dames van het DEC-secretariaat,
Bijgaand een verzoek van X voor een aanpassing in haar onderzoek onder DECnr. 2011.I.02.018. Het betreft een verzoek voor 12 maanden verlenging van de looptijd van het positief advies om het onderzoek volgens planning te kunnen afronden. Dit verzoek is per abuis bij indiening door de proefdierdeskundigen niet van een advies voorzien. Deze omissie wordt hierbij gecorrigeerd.
Ik heb geen bezwaar en adviseer de DEC om een nieuwe vervaldatum van de DEC-goedkeuring, nl. 1 maart 2013, toe te kennen.

LET OP !!!
In geval de DEC het advies overneemt en de aanpassing accordeert, wordt de onderzoeker/ster er op gewezen dat hij/zij er voor dient te zorgen, dat:

deze aanpassing in het werkprotocol wordt opgenomen;
de compliance officer van het GDL (indien het experiment in het GDL wordt uitgevoerd) wordt geïnformeerd;
deze informatie bij de dieren in de dierkamer aanwezig is.

Tegenwoordig voegt de DEC-Utrecht een reactie toe aan het wijzigingsverzoek en worden dus geen brieven meer verstuurd. Er dient op deze reactie te worden gewacht, alvorens de aanpassing mag worden uitgevoerd.

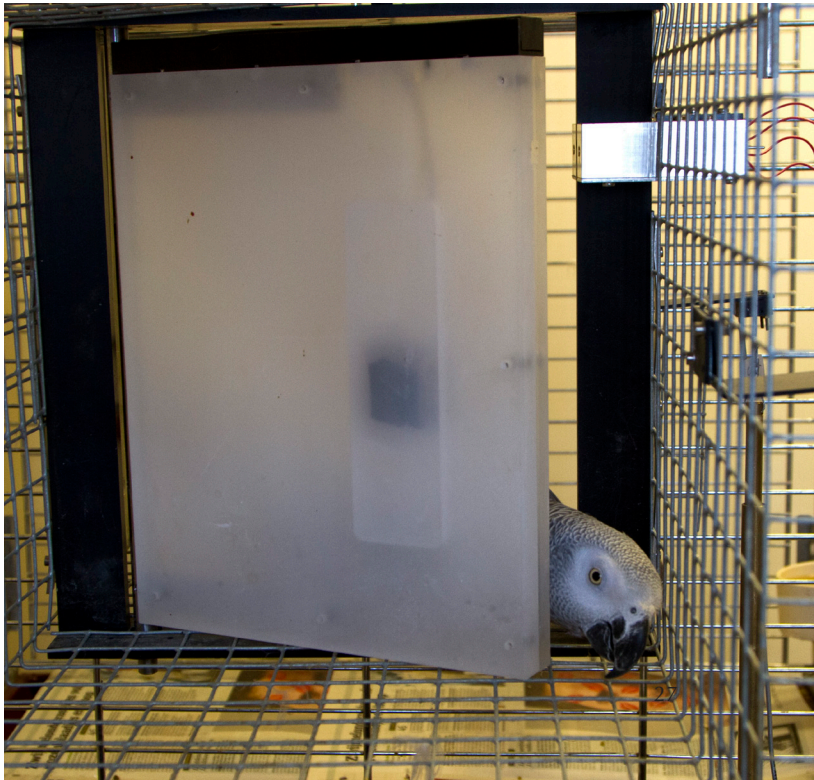
Vriendelijke groet,

Veel papegaaien in gevangenschap vertonen verenplukken. Er zijn sterke aanwijzingen dat dit optreedt als gevolg van een verstoring van het welzijn, veroorzaakt door de onmogelijkheid om hun natuurlijk gedrag uit te oefenen. Een voorbeeld hiervan is het foerageren (zoeken en consumeren van voedsel), waaraan vogels in het wild 5-8 uur per dag besteden. Uit eerdere onderzoeken is gebleken dat het aanbieden van foerageerverrijking (bv. voerpuzzels) een preventieve en therapeutische waarde heeft met betrekking tot verenplukken. Vogels hebben daarnaast ook behoefte dit gedrag uit te oefenen. Het is echter niet bekend welke foerageerverrijking het meest effectief is om dit gedrag te stimuleren. Doel van dit onderzoek (dec.nr 2011.II.02.018) is om te bepalen welk commercieel verkrijgbaar foerageerspeelgoed het meest effectief is in het benaderen van de tijdsbesteding aan voedsel zoeken door papegaai in het wild.



Foto rechtsboven: Grijze roodstaart papegaai Woody met een van de foerageerverrijkingen die getest zijn (pellets gemengd met substraat - in dit geval dus knikkers).

Foto rechtsonder: Consumer demand studie, waarin te zien is dat de papegaai het deurtje openduwt om van de ene kooi (rustkooi/basiskooi) naar de kooi met verrijking te lopen.



Pas als het advies van de proefdierdeskundige door de secretaris wordt overgenomen en de onderzoeker in kwestie een positief advies van de DEC heeft ontvangen, kan de aanpassing worden doorgevoerd. Een (online) positief advies van de DEC ziet er volgt uit:

Positief advies voor kleine wijziging

Advies en voorwaarde(n):
Conform punt 2 van het huishoudelijk reglement van de DEC Utrecht neemt de DEC het positief advies van de proefdierdeskundige, zoals hieronder aangeven over.

Deze wijziging valt binnen de toestemming van de vergunninghouder. Er zullen derhalve geen separate brieven van de DEC en de vergunninghouder naar de onderzoeker worden verstuurd. De onderzoeker dient er zelf voor te zorgen dat:

deze aanpassing in het werkprotocol wordt opgenomen;
de contactpersoon van de dierfaciliteit wordt geïnformeerd (in het GDL: de compliance officer);
deze informatie bij de dieren in de dierkamer aanwezig is.

De onderzoeker dient iedere wijziging van het onderzoeksplan/onderwijsprotocol ten opzichte van dit advies, alsmede onverwachte gebeurtenissen, onverwijld te melden aan de proefdierdeskundige (via de DEC website).

Wanneer het verzoek tot wijziging van het onderzoeksprotocol niet binnen het mandaat van de proefdierdeskundige valt moet het verzoek besproken worden tijdens de eerste komende DEC-vergadering van de betreffende kamer. Het advies van de proefdierdeskundige aan de DEC ziet er dan als volgt uit:

Verzoek amendement protocol DEC 2011.III.08.075
Verantwoordelijk onderzoeker/ster: X

Beste dames van het DEC-secretariaat,

Bijgaand een verzoek van X voor een aanpassing in zijn/haar onderzoek onder DECnr. 2011.III.08.075 . Het betreft een verzoek om 9 A/J muizen (surplus) toe te voegen aan het protocol. Tevens een verzoek om niet 6 maar maximaal 10 i.v. injecties per dier te geven (met voldoende rust, herstel tussen de injecties; hooguit 2 injecties per week). Een C-deel is bijgevoegd.

Ik heb geen bezwaar tegen deze wijziging en adviseer de DEC om 9 extra muizen (A/J) toe te kennen. Echter, aangezien dit verzoek het mandaat van de proefdierdeskundigen te boven gaat (> 20% extra dieren) leg ik dit verzoek met mijn positief advies voor aan de DEC ter bespreking tijdens de vergadering van DEC Kamer III op woensdag 26 september 2012. Indien mijn advies wordt overgenomen, zal de DEC de onderzoeker/ster hiervan op de hoogte stellen.

In geval de DEC het advies overneemt en de aanpassing accordeert, wordt de onderzoekster er op gewezen dat zij er voor dient te zorgen, dat:

deze aanpassing in het werkprotocol wordt opgenomen;
de compliance officer van het GDL (indien het experiment in het GDL wordt uitgevoerd) wordt geïnformeerd;
deze informatie bij de dieren in de dierkamer aanwezig is.

De DEC-Utrecht neemt normaal gesproken het advies van de proefdierdeskundigen over en voegt dan een reactie toe aan het wijzigingsverzoek. Er wordt alleen nog een brief toegestuurd, indien het verzoek buiten het mandaat van de proefdierdeskundigen valt en daardoor het advies van de proefdierdeskundigen tijdens een DEC-vergadering dient te worden bekrachtigd. In alle gevallen dient op de reactie of de brief van de DEC te worden gewacht, alvorens de aanpassing mag worden uitgevoerd.

Vriendelijke groet,

Indien tijdens de vergadering wordt besloten tot een positief advies, wordt dit schriftelijk per brief en via de website kenbaar gemaakt aan de onderzoeker. De goedkeuring per brief ziet er als volgt uit:

Datum : **28 september 2012**
Ons kenmerk : **JvL/12/0**

Onderzoeksplan : **Intraveneuze injectie in muizen**
DEC-nummer : **2011.III.08.075**
Deelvergunningsnr. : **10858**
Advies d.d. 26-09-12 : **Positief advies voor wijziging**
Aantal en soort : **9 extra A/J muizen**
Geldstroom : **intern**
Status : **betreft kleine wijziging. Deze wijziging valt binnen de toestemming van de vergunninghouder.**

Behandeling:
☐ **in DEC-vergadering d.d. 26 september 2012**
☒ **na advies proefdierdeskundige**
☐ **ambtelijke afhandeling**
☐ **anders:**

Advies en voorwaarde(n):
Conform het reglement van de DEC (artikel 8, punt 3) neemt de DEC het positief advies van de proefdierdeskundige d.d. 14 september 2012 over. Het betreft een verzoek voor het gebruik van 9 extra A/J muizen en voor het toedienen van maximaal 10 in plaats van 9 i.v. injecties per dier.

De onderzoeker dient iedere wijziging van het onderzoeksplan/onderwijsprotocol ten opzichte van dit advies, alsmede onverwachte gebeurtenissen, onverwijld te melden aan de DEC en de proefdierdeskundige.

Met vriendelijke groet,

mw. drs. J.E. van Luipen
ambtelijk secretaris DEC-Utrecht

Bijlage 1.1

REGLEMENT

Dierexperimentencommissie Utrecht

De Raad van Bestuur van het Universitair Medisch Centrum Utrecht (UMC Utrecht),
gezien het advies van de Centrale Commissie Dierproeven d.d. 20 januari 1997,
gelet op art. 18a Wet op de dierproeven, hierna te noemen 'de wet',

en

Het College van Bestuur van de Universiteit Utrecht (UU),
gezien het advies van de Centrale Commissie Dierproeven d.d. 20 januari 1997,
gelet op art. 18a Wet op de dierproeven, hierna te noemen 'de wet',

besluiten de Dierexperimentencommissie Utrecht, hierna te noemen DEC Utrecht, in te stellen, welke zal worden geregeerd door het volgende reglement:

artikel 1 - taak

1. De DEC Utrecht heeft tot taak advies uit te brengen aan de vergunninghouders UU en UMC Utrecht over alle voorge¬nomen dierproeven door medewerkers en studenten van de twee instellingen.
2. De DEC Utrecht is bevoegd op verzoek van andere vergunninghouders advies uit te brengen over door hen voorgenomen dierproeven. Het adviseren aan een andere vergunninghouder, dus: van buiten de UU of het UMC Utrecht, zal in beginsel op kostprijsbasis geschieden.

artikel 2 – bevoegdheden

1. De DEC Utrecht is bevoegd de Raad van Bestuur of het College van Bestuur, alsmede onder¬zoe-kers en andere direct bij dierproeven betrokkenen binnen het UMC Utrecht of de UU gevraagd en ongevraagd te adviseren over ontwikkelingen op het gebied van dierproeven en dierexperi-menteel onderzoek. Zij stimuleert daarbij het streven naar Vervanging, Vermindering en Verfijning van dierproeven.
2. De DEC Utrecht is bevoegd andere vergunninghouders, aan wie zij regelmatig advies uitbrengt over voorgenomen dierproeven, desgevraagd te adviseren over ontwikkelingen op het gebied van dierproeven en dierexperimenteel onderzoek.

artikel 3 - samenstelling

1. De DEC Utrecht bestaat uit een aantal kamers. Elke kamer bestaat uit:
   a. een voorzitter, tevens lid, niet in dienst van de UU of het UMC Utrecht noch door opdracht of last aan de UU of het UMC Utrecht gebonden en tevens niet in dienst van andere vergunninghouders waaraan de DEC advies uitbrengt;
   b. ten minste zeven leden waarbij het bepaalde onder punt 2 van toepassing is. Daarbij geldt tevens dat voor ten minste twee van deze zeven leden het bepaalde onder a van toepassing is. Dit betekent dat ten minste drie leden van de DEC-kamer, waaronder de voorzitter, niet in een arbeidsverhouding tot de vergunninghouder staan aan welke advies wordt uitgebracht.
2. Van iedere kamer van de DEC Utrecht maken in een evenredige getalsverhouding deel uit deskundigen op het gebied van:
   - dierproeven,
   - alternatieven voor dierproeven,
   - proefdieren en hun bescherming,
   - ethische toetsing.

   Een lid kan maximaal twee deskundigheden in zich verenigen. Daarnaast nemen een aantal inhoudsdeskundigen zitting in de DEC, passend bij het aandachtgebied van de desbetreffende kamer. Elke kamer kent ook één studentlid, inhoudsdeskundige op het gebied van het onderwijs. Voor de eisen aangaande de deskundigheid van de leden wordt uitgegaan van de criteria zoals vastgelegd door de NVDEC.
3. Ten minste twee van de leden zijn niet betrokken bij dierproeven.
4. De proefdierdeskundige neemt als adviseur zonder stemrecht deel aan de beraadslagingen van de DEC.

artikel 4 - benoeming

1. De voorzitter van de DEC Utrecht wordt in functie benoemd door de vergunninghouders (UU en UMC Utrecht).
2. De leden van de DEC Utrecht worden in functie benoemd door één van de vergunninghouders (UU of UMC Utrecht). Kandidaat-DEC-leden worden voorgedragen door de voorzitter van de DEC aan de vergunninghouder.
3. Een benoeming geschiedt voor de periode van 3 jaar. Herbenoeming is mogelijk.
4. De voorzitter en leden van de DEC Utrecht, die niet in dienst zijn van de UU of het UMC Utrecht, ontvangen een nader vast te stellen tegemoetkoming voor hun werkzaamheden.

artikel 5 - grondslag toetsing dierproeven

1. De DEC geeft in haar advies over een voorgenomen proef een oordeel over de afweging van het ongerief voor de proefdieren tegen het met de proef te dienen maatschappelijk en/of wetenschappelijk belang. Deze beoordeling wordt gedaan aan de hand van een onderzoeksplan, dat tevoren wetenschappelijk moet zijn goedgekeurd.
2. De DEC toetst elke voorgenomen dierproef aan de hand van het desbetreffende onder¬zoeks¬plan met inachtne¬ming van het bepaalde in de wet:
   a. inzake het doel van de proef (art. 2, tweede en derde lid);
   b. inzake de bepaling van de wijze van uitvoering van de proef (art. 9);
   c. inzake alternatieven voor de proef, waaronder begrepen uitvoering van de proef met minder proefdieren en/of minder ongerief voor de proefdieren (art. 10);

d. inzake zeer ernstig ongerief voor de proefdieren (art. 10b);
e. inzake het verrichten van dierproeven in relatie tot ontwikkelen en/of testen van cosmetica (art. 10d);
f. inzake het verrichten van dierproeven met inzet van mensapen (art. 10e);
g. inzake de herkomst van de proefdieren (art. 11);
h. inzake de verzorging en behandeling van de proefdieren (art. 12);
i. inzake het beperken van het ongerief voor de proefdieren (art. 13).

artikel 6 - vorm en motivering van advies

1. Het advies over een voorgenomen dierproef wordt schriftelijk uitgebracht aan de vergunninghouder, met een afschrift aan de verant¬woordelijk onderzoeker.
2. Een negatief advies wordt met redenen omkleed. Een negatief advies betekent een verbod tot uitvoering van de proef in kwestie, tenzij de Centrale Commissie Dierproeven - als 'beroepsinstantie' - een positief oordeel geeft.

artikel 7 - werkwijze

1. De DEC Utrecht stelt haar adviezen vast in een vergadering waarin ten minste de helft van de leden plus één lid aanwezig zijn.
2. Aan de opstelling van het advies over een bepaalde voorgenomen proef wordt niet deelgenomen door de leden die betrokken zijn bij het verrichten van die proef.
3. De DEC Utrecht bepaalt op welke wijze het onderzoeks- of onderwijsplan aan de DEC ter advisering wordt voorgelegd met inachtneming van het terzake geldende Wettelijke Voorschrift.
4. De DEC Utrecht neemt bij haar afwegingen de ethische en proefdierkundige criteria aangaande dierproeven in acht en gaat expliciet na of de mogelijkheid van alternatieve methoden is onderzocht. Daarnaast dienen de door de Voedsel- en Warenautoriteit uitgegeven richtlijnen en "Codes of Practice" als uitgangspunt bij de toetsing.
5. De DEC Utrecht kan de onderzoeker en eventueel andere deskundigen uitnodigen om ter vergadering een toelichting te geven op de aanvraag.
6. De DEC Utrecht streeft steeds naar besluitvorming via consensus en de inbreng van alle deskundigheden hierbij. Een advies kan alleen worden uitgebracht wanneer dit wordt gesteund door meer dan de helft van het aantal DEC-leden. Een minderheidsstandpunt wordt in het advies vermeld, indien één van de leden daar prijs op stelt.
7. Alvorens een negatief advies uit te brengen over een voorgenomen dierproef, hoort de DEC Utrecht de desbetreffende onderzoeker.
8. De DEC Utrecht geeft een positief advies af voor de duur van een jaar.
9. De DEC Utrecht vergadert niet in het openbaar. De voorzitter van de DEC Utrecht wordt in functie benoemd door de vergunninghouders (UU en UMC Utrecht).
10. De DEC Utrecht kent een huishoudelijk reglement. Dit is een nadere uitwerking van het reglement met betrekking tot de werkwijze van de DEC Utrecht. Het daarin bepaalde is niet in strijd met dit reglement. Het huishoudelijk reglement wordt vastgesteld in de plenaire vergadering van alle kamers.

artikel 8 – bijzondere regelingen

De DEC Utrecht heeft twee nadere regelingen getroffen:

1. Procedure beoordeling onderwijsaanvragen
   De DEC-onderwijsaanvragen worden in de regel op eenzelfde manier behandeld door de DEC als onderzoeksaanvragen, tenzij het ongerief voor de dieren niet hoger is dan gering tot matig ongerief.
   Voor aanvragen t.b.v. onderwijs met inschatting maximaal 'gering/matig ongerief' geldt dat:
   i. Het DEC-advies zal worden afgegeven voor de duur van 3 jaar onder de voorwaarde dat elke 12 maanden aan de DEC Utrecht wordt gerapporteerd:
      a. of zich tijdens het onderwijs nog bijzonderheden hebben voorgedaan m.b.t de dierexperimenten,
      b. of er nog wijzigingen in het protocol worden doorgevoerd voor de komende 12 maanden,
      c. hoeveel dieren er nodig zijn voor de komende 12 maanden. Dit aantal dient in het geval van een wijziging goed te worden onderbouwd.
   ii. Indien een wijziging van het protocol leidt tot een verhoging van het ongerief voor de dieren tot meer dan 'gering/matig', er een reguliere DEC-aanvraag ingeleverd dient te worden.
   iii. Bij verstrijken van de goedkeuringstermijn van 3 jaar een volledige nieuwe aanvraag ingediend zal worden.
2. Procedure aanvragen voor onderzoek met routinematig karakter
   Aanvragen voor onderzoek, dat gebruik maakt van routinematige handelingen zoals immunisatieprocedures of bij gebruik van beeldvormende technieken, worden op eenzelfde wijze en onder dezelfde voorwaarden behandeld als onderwijsaanvragen, zoals genoemd in artikel 8, punt 1, met dien verstande dat deze aanvragen betrekking mogen hebben op onderzoek met inschatting maximaal 'matig ongerief'.

artikel 9 - informatie en geheimhouding

1. De DEC Utrecht is bevoegd van ieder persoon binnen het UMC Utrecht of de Universiteit Utrecht de informatie en medewer¬king te verlangen die zij noodzakelijk acht voor de uitvoering van haar taak.
2. De leden van de DEC Utrecht zijn verplicht tot geheimhouding van al hetgeen hen uit hoofde van hun hoedanigheid bekend is geworden, voor zover zij niet tot mededeling bevoegd of verplicht zijn voor de vervulling van hun taak.

artikel 10 - verslag

De DEC Utrecht brengt jaarlijks voor 1 april een verslag uit van haar samenstelling, werkzaamheden en uitgebrachte adviezen in het voorgaande kalenderjaar aan de Minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport, en zendt een afschrift daarvan aan de Raad van Bestuur van het UMC Utrecht en het College van Bestuur van de Universiteit Utrecht. Daarnaast wordt het jaarverslag geplaatst op de website van de DEC Utrecht. Voor verslaglegging dient het format van de NVDEC als leidraad.

artikel 11 – ondersteuning

De DEC Utrecht wordt bijgestaan door een ambtelijk secretaris, die geen lid is van de DEC Utrecht en aangewezen is door een van de vergunninghouders, en wordt ondersteund door een procescoördinator.

Utrecht, januari 2011

Bijlage 1.2

Samenstelling DEC Utrecht, december 2012

Voorwaarden conform WoD

- Minimaal 7 leden (voorzitter, 4 deskundigheden);
- Tenminste 2 van de 7 leden van de DEC-Utrecht zijn noch door opdracht of last aan het UMC Utrecht dan wel de UU verbonden;
- Tenminste twee leden zijn niet betrokken bij dierproeven.

Kamer 1: Hersenen en Gedrag, Beeldvorming, GGO's (7 leden)

- Lid — Ethische Toetsing, niet gebonden
- Lid — Alternatieven/Bescherming, niet gebonden
- Lid** — Bescherming/Dierproeven, gebonden
- Lid — Dierproeven, gebonden
- Lid — Inhoudsdeskundige, gebonden
- Lid — Inhoudsdeskundige dierproeven onderwijs, niet gebonden
- *Lid* — *Voorzitter, inhoudsdeskundige, niet gebonden*

Kamer 2: Hart/Longen, Vaten, Immunologie & Infectie (7 leden)

- Lid — Ethische Toetsing, niet gebonden
- Lid — Alternatieven en bescherming, niet gebonden
- Lid — Dierproeven, gebonden
- Lid** — Dierproeven, gebonden
- Lid — Inhoudsdeskundige, gebonden
- Lid — Inhoudsdeskundige dierproeven Onderwijs, niet gebonden
- *Lid* — *Voorzitter, inhoudsdeskundige, niet gebonden*

Kamer 3: Experimentele Oncologie, Endocrinologie en Voortplanting, Orthopedie, Heelkunde, Anesthesie, GDL-bedrijfsvoering, IRAS aanvragen (7 leden)

- Lid — Ethische Toetsing, niet gebonden
- Lid — Dierproeven, gebonden
- Lid* — Alternatieven/Dierproeven, gebonden
- Lid — Dierproeven/Bescherming, gebonden
- Lid — Inhoudsdeskundige dierproeven Onderwijs, niet gebonden
- Lid — Dierproeven, gebonden
- *Lid* — *Voorzitter, inhoudsdeskundige, niet gebonden*

* Voor alle kamers tevens deskundige/adviseur voor toxicologie van onbekende/niet geregistreerde stoffen.
** Tevens optredend als deskundige op het gebied van de biostatistiek.

2

Lekensamenvattingen

Lekensamenvattingen 2012

Kamer I

Beeldvorming,
Gedrag en Hersenen,
GGO's

Vergadering 11 januari 2012

Titel studie: Murine neurospheres as an in vitro model for neurodevelopment
DEC nummer: 2012.I.01.001

Neurospheres als model voor hersenontwikkeling
Achtergrond: Het (ontwikkelende) zenuwstelsel is een van de meest gevoelige orgaansystemen en recent onderzoek suggereert dat verschillende omgevingsfactoren (chemisch zoals verontreinigende stoffen en medicijnen, maar ook fysisch zoals bijv. extreem laag frequente elektromagnetische velden (ELF-EMV) de ontwikkeling en het functioneren van het zenuwstelsel kunnen veranderen. Hersenontwikkeling en de verstoring daarvan door omgevingsfactoren, is in het lab lastig te onderzoeken. In het lab kunnen nu neurospheres worden gebruikt om buiten een dier de (verstoring van) hersenontwikkeling te onderzoeken. Neurospheres zijn bolvormige structuren welke bestaan uit meerdere cellen die worden geisoleerd uit embryonaal hersenweefsel van muizen. De aanwezigheid van verschillende celtypes, groei en ontwikkeling in de neurospheres komt overeen met in vivo hersenontwikkeling, waardoor onderliggende mechanismen van verstoorde hersenontwikkeling hierin kunnen worden onderzocht.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om aspecten van hersenontwikkeling te onderzoeken in neurospheres in plaats van rechtstreeks in proefdieren, ter vermindering van het proefdiergebruik. Dit in vitro model zal worden gebruikt om de neurotoxiciteit van verschillende chemische en fysische omgevingsfactoren (drugs, verontreinigende stoffen, medicijnen, elektromagnetische velden) te onderzoeken.
Globale aanpak vraagstelling: De neurospheres worden verkregen uit het brein van embryonale muizen. De ontwikkelende neurospheres worden vervolgens in het lab blootgesteld aan de te onderzoeken chemische en fysische omgevingsfactoren. Daarna kunnen effecten op de groei, ontwikkeling en functie van de neurospheres worden gemeten om zo een betere inschatting te kunnen maken van het gevaar van omgevingsfactoren voor het ontwikkelende brein.

Titel studie: Behavioural and neurobiological characterization of Contactin-5 knockout mice
DEC nummer: 2012.I.01.002

Karakterisatie van de Contactin-5 knock-out muis op een uitvoerige test batterij voor (cognitief) gedrag
Achtergrond: Psychiatrische aandoeningen als autisme en schizofrenie vinden hun oorsprong in een verstoring van de ontwikkeling van de hersenen. Contactin-5 is een eiwit dat een cruciale rol speelt in de communicatie tussen hersencellen en de gezonde ontwikkeling van de hersenen. Bovendien is ontdekt dat sommige autisme-patiënten een afwijking hebben in het gen dat Contactin-5 produceert. De Contactin-5 knock-out muis is een genetisch model voor stoornissen in de ontwikkeling van de hersenen. Over de effecten van deze genetische manipulatie op het latere gedrag van de muis en de hersenontwikkeling is nog weinig bekend.
Doel/hypothese: Het karakteriseren van de Contactin-5 muis op een aantal belangrijke gedragsparameters als gezondheid, locomotie, activiteit, angst en cognitie om te bepalen wat het effect is van de genetische manipulatie in deze muis op het gedragsfenotype. Daarnaast wordt de ontwikkeling van de hersenen, met name de cortex, onderzocht op verschillende leeftijden.
Globale aanpak vraagstelling: Contactin-5 knock-out, heterozygote en wild-type muizen worden vanaf de vroege adolescentie tot in volwassenheid getest op een batterij die de volgende elementen bevat: algemene gezondheidsstatus, neurologische reflexen, locomotie, basale activiteit, angst en leertaken om lange en korte termijn geheugen (zowel voor sociale als niet-sociale stimuli) en de mate van cognitieve flexibiliteit te kunnen onderzoeken. Daarnaast wordt tijdens

deze leeftijdsfasen gekeken naar de ontwikkeling van de cortex in de hersenen van Contactin-5 muizen. Gedetailleerd onderzoek naar de genetische en neurobiologische oorzaken van psychiatrische aandoeningen is alleen mogelijk met proefdieren.

Titel studie: Farmacologische en toxicologische eigenschappen van Ion kanalen
DEC nummer: 2011.I.01.003

Farmacologische en Toxicologische Eigenschappen van Ionkanalen
Achtergrond: Om te communiceren moeten zenuwcellen signalen versturen en ontvangen. Voor deze signaal ontvangst worden zgn. 'receptor-gekoppelde ion kanalen' gebruikt. Echter, het functioneren van deze ion kanalen kan worden beïnvloed door bijv. medicijnen, drugs en milieucontaminanten.
Doel/hypothese: Hypothese is dat medicijnen en milieucontaminanten de binding van de lichaamseigen signaalstoffen aan de zgn. ionkanalen kunnen remmen en zo dus de signaalontvangst kunnen verstoren. Het gevolg hiervan is dat de communicatie tussen zenuwcellen wordt verstoord.
Globale aanpak vraagstelling: De zgn. ion kanalen kunnen tot expressie worden gebracht in onbevruchte eicellen van de klauwpad (Xenopus). Het functioneren van deze ion kanalen kan nu met speciale (elektrofysiologische) technieken worden onderzocht. Allereerst wordt nu met bekende lichaamseigen signaalstoffen (neurotransmitters) de activatie van deze ionkanalen onderzocht. Vervolgens kan de activatie van de ionkanalen in aan- en afwezigheid van potentieel giftige stoffen worden bestudeerd om te bepalen of deze stoffen in staat zijn om ionkanaalactivatie en daarmee communicatie tussen zenuwcellen te verstoren. Deze informatie wordt uiteindelijk gebruikt om tot een betere risicobeoordeling voor potentieel giftige stoffen te komen.

Titel studie: Gen en cel analyse in de corticale ontwikkeling van de muis
DEC nummer: 2012.I.01.004

Neurogenetica en de rol van het primaire cilium in autisme
Achtergrond: Autisme is een ernstige neuropsychiatrische aandoening. Onderzoek heeft geleid tot de hypothese dat het primaire cilium, een soort antenne dat zich op o.a. neuronen bevindt, een rol speelt in de ontwikkeling van het hersenschors en het ziektebeeld van autisme. Daarnaast is een aantal risicogenen geselecteerd, waarvan bekend is dat mutaties tot autisme kunnen leiden en dat ze eiwit tot expressie brengen in het primaire cilium. Onderzoek hiernaar zal bijdragen aan inzicht in de neurobiologie van autisme en opent de mogelijkheid tot betere diagnose en behandeling
Doel/hypothese: Dit onderzoek zal leiden naar kennis over het primaire cilium in de ontwikkeling van het hersenschors (cerebrale cortex) en het ontstaan van autisme in deze ontwikkeling. Daarnaast zal het bestuderen van de afwijkende eiwitconcentraties van de risicogenen inzicht geven in de neurobiologische processen die ten grondslag liggen aan autisme
Globale aanpak vraagstelling: Na het aantonen van verschillende processen en eventuele functies van het cilium en de geselecteerde genen in celkweek, zullen resultaten moeten worden bevestigd in muizenhersenen. Muizen zullen op snelle, pijnloze manier worden geeuthanaseerd en de hersenen zullen worden verwijderd. Biologische processen en hersenstructuren zullen worden onderzocht, bijv. door het aankleuren van eiwitten in dun gesneden hersenplakken van de muis. De muislijnen waarin een bepaald gen geïnactiveerd is, zijn zeer waardevol in het onderzoeken van de functie van dat gen in de ontwikkeling van de hersenen en in het ontstaan van autisme.

Titel studie: Validatie van een nieuwe taak waarmee eetgedrag gerelateerd kan worden aan neurale activiteit
DEC nummer: 2012.I.01.005

Validatie van een nieuwe taak waarmee de functie van neurale activiteit gerelateerd kan worden aan eetgedrag
Achtergrond: In de huidige samenleving komen eetstoornissen zoals obesitas en anorexia nervosa steeds vaker voor. Mensen die lijden aan een eetstoornis hebben een verstoorde balans van energie-inname en energieverbruik. Hersengebieden die betrokken zijn bij de motivatie om te eten nemen dan de controle van eetgedrag over. Door te kijken naar de hersencellen die actief worden tijdens dit anticipatoir gedrag, krijgen de onderzoekers een beeld van de neuronen die een rol spelen bij de motivatie om te eten. Dit brengt een stap dichterbij het ontrafelen van de processen die een rol spelen bij de de regulatie van eetgedrag en die verstoord zijn in mensen met een eetstoornis.
Doel/hypothese: Validatie van een nieuwe taak waarmee de functie van neurale activiteit gerelateerd kan worden aan eetgedrag.
Globale aanpak vraagstelling: Ratten worden getraind in een kooi waar 3 verschillende soorten voer aangeboden kunnen worden. Vlak voordat ze voedsel krijgen gaat er een lampje branden, wat de komst van voedsel aangeeft. Als de ratten dit geleerd hebben, krijgen ze meetelektroden geïmplanteerd in de hersenen om de neurale activiteit te meten. Daarmee kunnen de onderzoekers kijken of de hersencellen(anders) reageren op het lampje en/of de verschillende soorten voer. Dit experiment kan alleen in dieren uitgevoerd worden, omdat ze kijken naar het gedrag in combinatie met neurale activiteit in de hersenen. Hierdoor hopen de onderzoekers meer inzicht te krijgen in de processen die een rol spelen in de regulatie van eetgedrag.

Titel studie: Testing of a behavioural test battery for basic cognitive performance in BTBR T+ tf/J inbred mice
DEC nummer: 2012.I.01.006

Het testen van muismodel voor autisme op een uitvoerige test batterij voor (cognitief) gedrag
Achtergrond: Problemen met het aanpassen van gedrag aan veranderingen, i.e. cognitieve rigiditeit, wordt gezien als een kernprobleem bij verschillende psychiatrische aandoeningen. Preklinische studies bij dieren dienen om te onderzoeken wat precies de neurobiologische oorzaken zijn van de cognitieve rigiditeit bij deze patiënten. Eerst is het noodzakelijk een duidelijk beeld te hebben van het fenotype en de onderliggende gedragsmatige factoren. Hiervoor is een test batterij ontwikkeld, die zowel simpele gedragingen als locomotie en angst integreert met complexere taken die het leervermogen en cognitieve flexibiliteit meten.
Doel/hypothese: In deze studie wordt een muismodel voor autisme, de BTBR inteelt lijn, getest op de testbatterij om zowel de validiteit van de testbatterij te toetsen, als nieuwe kennis op te doen van de ontwikkeling van afwijkende gedragingen in dit muismodel.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden getest op een batterij die de volgende elementen bevat: algemene gezondheidsstatus, neurologische reflexen, locomotie, basale activiteit, angst en leertaken om lange en korte termijn geheugen (zowel voor sociale als niet-sociale stimuli) en de mate van cognitieve flexibiliteit te kunnen onderzoeken.

Titel studie: Labeling van T cellen met MRI contrastmiddelen
DEC nummer: 2012.I.01.007

Imaging van ontstekingscellen in de hersenen na een beroerte
Achtergrond: Na afloop van een beroerte ontstaat een ontstekingsreactie. Onderzocht wordt wanneer, en in welke mate, een bepaald type ontstekingscel de hersenen in migreert, en hoe dit verband houdt met het resulterende infarct alsmede

het herstel hiervan.
Doel/hypothese: De hypothese is dat een grote hoeveelheid aan infiltrerende ontstekingscellen in de hersenen het resulterende infarct zal vergroten en het herstel hiervan zal vertragen.
Globale aanpak vraagstelling: Dieren zullen gedood worden. Vervolgens wordt de milt uitgenomen. Daarna zal een specifieke cel populatie, T cellen, worden geïsoleerd uit de milt. Vervolgens gaan de onderzoekrs op zoek naar de optimale condities om deze cellen in leven te houden en ze op te laden met MRI contrastmiddelen, zodat deze cellen kunnen worden bekeken met MRI.

Titel studie: Het effect van een triple re-uptake inhibitor op monoaminelevels in LPS-geïnduceerde anhedonie
DEC nummer: 2012.I.01.008

Het effect van een antidepressiva op door het immuunsysteem geïnduceerde veranderingen in de hersenen die mogelijk bijdragen aan het ontwikkelen van een depressie
Achtergrond: Er zijn steeds meer aanwijzingen dat het immuunsysteem een rol speelt bij depressie. LPS is een stofje dat het immuunsysteem activeert en in staat is om depressie-achtig gedrag (verlies van plezier) bij dieren te induceren. Eerder hebben de onderzoekers laten zien dat LPS leidt tot verhoogde afgifte van afbraakproducten van signaalstoffen in de hersenen zonder dat de hoogte van de signaalstoffen zelf verandert. De onderzoekers willen weten hoe dat kan.
Doel/hypothese: Ze willen uitzoeken hoe LPS in staat is om de afbraak van signaalstoffen in de hersenen te verhogen zonder dat ze een verlaging in de afgifte van de signaalstoffen zelf vinden. De onderzoekers vermoeden dat LPS zowel de afgifte als de heropname van de signaalstoffen verhoogt, waardoor er netto geen verschil wordt gevonden in de signaalstof.
Globale aanpak vraagstelling: Om signaalstoffen in de hersenen te meten worden muizen gedurende een dag aangesloten op een meetsysteem waarmee ze signaalstoffen en de afbraakproducten van deze signaalstoffen in de hersenen kunnen meten. Tijdens de metingen worden de dieren blootgesteld aan een antidepressiva dat de opname van signaalstoffen in de hersenen remt. Vervolgens activeren ze het immuunsysteem met LPS om te kijken of de afgifte van signaalstoffen inderdaad toeneemt.

Titel studie: Ruimtelijk gedrag van wilde eenden in gefragmenteerde landschappen
DEC nummer: 2012.I.01.009

Het effect van landschapsconfiguratie op ruimtelijke gedragspatronen van wilde eenden
Achtergrond: De wilde eend is de meest talrijke watervogel in Nederland en wordt vooral gewaardeerd als bejaagbare soort. Er schuilt echter meer achter de wilde eend. Door zijn algemene voorkomen, gevarieerde dieetkeuze, sociale leefwijze en frequente verplaatsingen is hij aangewezen als belangrijke verspreider van plantenzaden, eitjes van invertebraten en van virussen zoals het laag-pathogene vogelgriepvirus. Als je weet waar de eenden heen gaan, weet je ook waarheen ze deze organismen en virussen transporteren. In deze context is het verrassend dat de bewegingspatronen van wilde eenden in Nederland nooit zijn onderzocht, terwijl de techniek inmiddels ver genoeg is om vogels van dit formaat nauwgezet te volgen in hun natuurlijke omgeving.
Doel/hypothese: Het doel van dit project is te kwantificeren hoe vaak, over welke afstanden en in welke richting organismen en virussen getransporteerd worden door wilde eenden. Door het monsteren en het in kaart brengen van het ruimtelijke gedrag van wilde eenden in verschillende landschapstypen, kunnen de onderzoekers bepalen of gebieden verschillen in aanwezigheid van het laag-pathogene vogelgriepvirus als ook de verspreiding hiervan. Naar verwachting



Met een schuifmaat wordt de gecombineerde lengte van de kop en de snavel gemeten.



De cloaca van een mannelijke Wilde Eend wordt bemonsterd met een wattenstaaf.

zullen wilde eenden meerdere keren per dag korte afstanden van enkele honderden meters tot enkele kilometers vliegen van en naar waterrijke gebieden waarbij ze in natte landschappen meer virussen en plantenzaden meedragen dan in droge landschappen.
Globale aanpak vraagstelling: Vier landschapstypen in Nederland worden geselecteerd die onderling verschillen in de dichtheid aan waterrijke gebieden (plassen, moerassen, etc.). In elk landschapstype worden wilde eenden gevangen met inloopkooien en netten. Van elke eend wordt met een wattenstaafje een monster genomen van de keel en de cloaca en wordt er een kleine hoeveelheid bloed afgenomen om te onderzoeken of ze besmet zijn of zijn geweest met vogelgriep (door detectie van antilichamen). Tevens wordt een klein stukje veer afgenomen om de herkomst van het individu te bepalen (aan de hand van waterstof stabiele isotopen). Daarna krijgen ze een klein GPS ontvangertje op de rug die elke 15 minuten op enkele meters nauwkeurig de GPS positie opslaat. Na 2 weken worden de vogels terug gevangen, worden de GPS ontvanger en het tuigje verwijderd. Vervolgens worden de eenden weer vrijgelaten. Deze procedure wordt



GPS zender op de rug van de eend. Deze zender blijft 2 weken zitten.

gedurende één jaar driemaal herhaald om te onderzoeken of er verschillen zijn tussen seizoenen. Omdat de onderzoekers deze metingen niet kunnen doen bij dode vogels die bijvoorbeeld bij de jacht zijn geschoten, is het noodzakelijk levende eenden te gebruiken voor dit onderzoek. Het veroorzaakte ongerief is echter slechts van korte duur en zal geen langdurige gevolgen hebben voor de vogels na beëindiging van de studie.

Titel studie: Neurobiologie van sociale motivatie
DEC nummer: 2012.I.01.010

Hoe komt de motivatie voor sociale beloning tot stand in de hersenen
Achtergrond: Er is een aantal gedragingen, die door mens en dier als prettig wordt ervaren en die belangrijk is voor het voortbestaan van individu, groep of soort. De bekendste van deze zgn. natuurlijke beloners zijn eten, drinken, seks en sociaal gedrag. In vergelijking met eten en seks is er maar weinig bekend over hoe sociaal gedrag in de hersenen tot stand komt. Dit is opmerkelijk, aangezien sociaal gedrag verstoord is bij een groot aantal psychiatrische stoornissen, zoals autisme, ADHD, antisociale gedragsstoornissen, schizofrenie en depressie. Verder is sociaal speelgedrag bij jonge dieren van groot belang voor de ontwikkeling van het dier.
Doel/hypothese: Dit onderzoek wil ophelderen via welke hersensystemen motivatie voor sociaal speelgedrag tot stand komt.
Globale aanpak vraagstelling: Bij dit onderzoek zal bekeken worden hoe sociaal speelgedrag bij ratten te beïnvloeden is met geneesmiddelen. De dieren zullen worden getraind in een taak waarbij ze op een pedaaltje moeten drukken om de mogelijkheid te krijgen om te spelen met een soortgenoot. Het aantal keer dat een rat bereid is om op een pedaal te drukken voor een sociaal spel wordt gebruikt als een maat voor sociale motivatie. Door de activiteit van een aantal signaalstoffen in de hersenen te beïnvloeden, proberen de onderzoekers te achterhalen welke mechanismen in de hersenen betrokken zijn bij de totstandkoming van sociale motivatie.

Vergadering 8 februari 2012

Titel studie: The role of exosomes in MSC-induced repair of HI brain damage
DEC nummer: 2012.I.02.011

De rol van exosomen in herstel van hersenschade door zuurstofgebrek in pasgeborenen
Achtergrond: Zuurstofgebrek rond de geboorte is een veelvoorkomende oorzaak van hersenschade in de pasgeborene. Tot op heden is er geen therapie beschikbaar die de gedane schade kan verminderen. Eerdere studies in een muismodel hebben al laten zien dat het behandelen van hersenschade bij de pasgeborene met beenmerg afkomstige stamcellen een positief effect heeft op de hoeveelheid schade. Het is echter nog onbekend hoe dat werkt. De onderzoekers weten dat de stamcellen stoffen uitscheiden die herstel processen stimuleren. Naast het uitscheiden van stoffen, kunnen de stamcellen ook kleine pakketjes met verschillende stimulerende eiwitten uitscheiden die opgenomen worden door omliggende cellen. Deze pakketjes, exosomen genaamd, spelen mogelijk een belangrijke rol in de positieve effecten die stamcellen hebben op het herstel van hersenschade.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is te bepalen of exosomen uitgescheiden door beenmerg afkomstige stamcellen ervoor zorgen dat hersenschade door zuurstofgebrek bij de pasgeborene hersteld.
Globale aanpak vraagstelling: Exosomen worden geïsoleerd uit beenmerg afkomstige stamcellen en muizen met hersenschade worden behandeld met deze exosomen op 10 dagen na het ontstaan van de schade. Vanaf dat moment wordt de functie van het linker voorpootje van de muis getest, omdat dat een maat is voor herstel van de schade. Op 28 dagen na ontstaan van de schade zal in de hersenen bekeken worden of en hoe herstel heeft plaatsgevonden.

Titel studie: Karakterisering van verbindingen tussen basale ganglia en hypothalamus, die betrokken zijn bij eetgedrag
DEC nummer: 2012.I.02.012

Karakterisering van hersenverbindingen tussen delen van de basale kernen en de hypothalamus, die betrokken zijn bij eetstoornissen
Achtergrond: De hypothalamus is een zeer belangrijk onderdeel van de hersenen, dat betrokken is bij de basale regulatie van responsen op signalen die via verschillende wegen het centrale zenuwstelsel binnenkomen. Verschillende delen van de hypothalamus lijken verschillende functies te hebben binnen regelsystemen en staan onderling met elkaar in verbinding. Eén van de regelmechanismen, waarbij de hypothalamus een grote rol speelt is de energiebalans. Verstoring van die regulatie kan leiden tot stoornissen zoals obesitas en anorexia. Aanpassing en verstoring van die balans hebben vaak een basis in hoger gelegen emotioneel gerelateerde hersengebieden, waarvan de basale kernen een belangrijk deel uitmaken. Hoe de relatie tussen onderdelen van de basale kernen en de hypothalamus vorm heeft gekregen in hun verbindingen, is niet helder.
Doel/hypothese: Het doel is te onderzoeken hoe de relatie is tussen functionele subgebieden van de hypothalamus en de verschillende delen van de basale ganglia. De hypothese is dat verschillende delen van de basale ganglia elk een specifiek patroon in verbindingen heeft met verschillende delen van de hypothalamus.
Globale aanpak vraagstelling: Met behulp van stofjes, die door zenuwcellen opgenomen worden en binnen een cel getransporteerd worden ofwel van zenuweindiging naar cellichaam of andersom (tracers) , in combinatie met het zichtbaar maken van specifieke celeigenschappen, zoals specifieke stoffen of receptoren, zullen verbindingen tussen verschillende hersengebieden in kaart gebracht kunnen worden. Door de combinatie van technieken kunnen de onderzoekers ook speciale eigenschappen van die verbindingen ophelderen. Door de jarenlange expertise met het proefdier en de andere onderzoeken is de rat het aangewezen proefdier.

Titel studie: Karakteriseren van de rol van de VTA in beloningsgedrag
DEC nummer: 2012.I.02.013

Pathofysiologie van het zenuwstelsel
Achtergrond: De hersenen bestaan uit verschillende gebieden die bij betrokken zijn bij het vormen van gedrag. Een voorbeeld hiervan is het beloningsysteem, dat bestaat uit hersencellen van het ventraal tegmentum (VTA). Dit hersengebied is betrokken bij de motivatie of drang naar onder meer belonende stoffen. Daarnaast is het verstoord bij een groot aantal vormen van verslaving. Het huidige onderzoek zal zich bezighouden met rol van dit hersengebied in beloningsgedrag. Door het gebruik van een nieuwe techniek, genaamd optogenetics, is het mogelijk om de neurale activiteit direct te beïnvloeden. Hierdoor kan er in proefdieren onderzocht worden welke rol dit hersengebied speelt in gedrag. Er zal zowel basaal onderzoek gedaan worden naar de rol van dit hersengebied in beloningsgedrag, als meer toegepast onderzoek naar de rol van dit hersengebied in de belonende werking van alcohol.
Doel/hypothese: Met dit onderzoek vergroten de onderzoekers het inzicht in de hersengebieden die betrokken zijn bij beloning en belonend gedrag. Begrip van dit systeem zal er toe leiden dat er een beter inzicht ontstaat van de rol van dit systeem bij verstoringen er van, in bijvoorbeeld alcohol verslaving of bij verstoord eetgedrag.
Globale aanpak vraagstelling: Dieren worden geopereerd en behandeld, waarna hersencellen in het beloningssysteem gevoelig worden gemaakt voor licht. Hierna worden dieren getraind op een taak waarbij ze beloningen kunnen verdienen, en wordt er gekeken naar de effecten van het aan- en/of uitzetten van deze hersencellen met behulp van laser licht.

Titel studie: Pilot experiment optogenetic modulatie van het autonome zenuwstelsel
DEC nummer: 2012.I.02.014

Opzetten van een nieuwe techniek om de rol van het autonome zenuwstelsel te onderzoeken
Achtergrond: Recentelijk is er een nieuwe techniek beschikbaar gekomen waarmee de rol van hersengebieden onderzocht kan worden. Met deze techniek kunnen hersencellen in een bepaald gebied gevoelig gemaakt worden voor licht. Door met een geïmplanteerde optische vezel licht te schijnen
op het hersengebied kunnen hersencellen aan- of uitgezet worden. Op die manier kan de functie van het hersengebied worden onderzocht. Met de experimenten beschreven in dit protocol willen de onderzoekers in de hersenstam de cellen aldaar gevoelig maken voor licht. Omdat dat nog niet eerder is gedaan, willen zij deze injectietechniek in het lab opzetten. Als dit experiment succesvol is, kunnen ze in de toekomst de rol van het autonome zenuwstelsel in ziektes zoals obesitas met optogenetics onderzoeken.
Doel/hypothese: Het opzetten van de techniek om met behulp van een injectie in de hersenstam hersencellen gevoelig te maken voor licht. Daarnaast zal onderzocht worden hoe lang er gewacht moet worden na het plaatsen van de injectie tot het virus ook tot in de perifere organen terecht is gekomen.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen zullen onder anesthesie geopereerd worden en een virus ingespoten krijgen in de hersenstam. Dit virus zal de hersencellen op de plaats van injectie gevoelig maken voor licht. De muizen zullen na de operatie herstellen en na een interval van 6-10 weken gedood worden. Met behulp van een lichtgevoelige microscoop zal vervolgens in het brein en verschillende organen gekeken worden of het virus tot expressie is gekomen. Het is noodzakelijk om deze experimenten uit te voeren in proefdieren, omdat de rol van het autonoom zenuwstelsel alleen in levende dieren onderzocht kan worden.

Titel studie: Further development of odour discrimination test for judgement bias in BALB/c mice: positive judgement bias
DEC nummer: 2012.I.02.015

Verdere ontwikkeling van een geur test voor judgement bias(beoordelingsvoorkeur) in BALB/c muizen
Achtergrond: Emoties hebben invloed op de manier waarop mensen en dieren ambigue stimuli interpreteren. Negatieve emoties, zoals angst, zorgen voor een negatieve interpretatie van ambigue stimuli, terwijl positieve emoties zorgen voor een positieve interpretatie. In verschillende diersoorten is gevonden dat stimuli van onbekende waarde (bijv. een mengsel van geuren die respectievelijk iets lekkers of iets vies voorspellen) meer negatief worden geïnterpreteerd bij een hogere angst en meer positief worden geïnterpreteerd als een positieve manipulatie (zoals kooiverrijking) wordt toegepast. Een judgement bias test is vergelijkbaar tussen diersoorten en heeft potentie om een maat te vormen voor dierenwelzijn.
Doel/hypothese: Verder ontwikkelen van de eerder uitgevoerde test met geuren die gebruikt kan worden als test voor judgement bias. Het doel: uitvinden of de judgement bias die is gevonden in de vorige test, naast een negatieve bias (veroorzaakt door angst) ook een positieve bias kan meten in muizen.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden geconditioneerd met geuren in de thuiskooi. Hierbij wordt tijdens verschillende training-trials een geur gepaard met een amandelstukje en een andere geur gepaard met een vergelijkbaar vies gemaakt (kinine) amandelstukje. In de test wordt gekeken hoe de dieren reageren op een mix van deze twee geuren in vergelijking met de positieve en negatieve geur. Een deel van de muizen krijgt na de eerste test een positieve manipulatie in de vorm van extra verrijking en deze wordt vergeleken met een groep die dit niet krijgt in een tweede test.

Titel studie: Neuroprotectieve effecten van het remmen van mitochondriaal JNK voor neonatale hypoxisch-ischemische hersenschade
DEC nummer: 2012.I.02.016

Beschermende effecten van het remmen van het mitochondriaal JNK eiwit in een model van hypoxisch-ischemische hersenschade (zuurstofgebrek) in de pasgeboren rat
Achtergrond: 2000 pasgeborenen in Nederland maken rond de geboorte een ernstige mate van zuurstofgebrek (hypoxie-ischemie (HI)) door. Op dit moment zijn er geen effectieve behandelingsmogelijkheden. Kennis van de processen in de hersenen tijdens HI zijn belangrijk voor het opzetten van een gerichte beschermende therapie. Apoptotische (geprogrammeerde) celdood is een van de belangrijkste processen tijdens het ontstaan van HI hersenschade. Het eiwit JNK draagt bij aan het aanzetten van apoptotische celdood. De onderzoekers hebben in hun voorgaand onderzoek gevonden dat het remmen van JNK het ontstaan van hersenschade na HI in pasgeboren ratten voor een deel kan voorkomen. Het mechanisme achter de rol van JNK tijdens het ontstaan van HI hersenschade is echter nog niet ontrafeld. Er zijn aanwijzingen dat JNK zowel in de celkern als aan de mitochondriën (energie-fabrieken van de cel) een belangrijke schadelijke rol kan spelen.
Doel/hypothese: Doel van deze studie is te onderzoeken of ratten die na HI behandeld
worden met een JNK remmer die alleen de activatie van JNK aan de mitochondriën remt (Sab-Kim), even effectief kan zijn als een JNK remmer die zowel JNK in de kern als JNK aan de mitochondriën remt (D-JNKi). Dit geeft inzicht in de rol van JNK op verschillende plaatsen in de cel en zal de uiteindelijke neuroprotectieve therapie met JNK remming effectiever kunnen maken.
Globale aanpak vraagstelling: Het zuurstofgebrek in de hersenen wordt nagebootst in pasgeboren ratten. De ratten worden hierna behandeld met één van de twee JNK remmers of als controle met het oplosmiddel. Allereerst kijken de onderzoekers op 2 dagen na het HI insult of JNK remming met deze remmers beschermend werkt. Dit tijdstip en bepaalde histologische markers waarmee zij al jarenlange ervaring hebben zijn goede voorspellers voor de mate van bescherming. Verder kijken de onderzoekers op 3 uur en 24 uur naar de mechanisme achter JNK remming (JNK remming in de

verschillende cel-compartimenten alsmede de effecten op apoptotische celdood). Ten slotte willen zij een lange-termijn experiment doen waarin zij zullen bekijken of de HI ratten na behandeling met de JNK remmers verbetering laten zien van hun motorische (bewegings) en cognitieve (geheugen) vaardigheden. Omdat HI hersenschade een complex proces is dat ontstaat door meerdere systemen t.w. bloedcirculatie, de bloed-hersenbarrière en het immuunsysteem, is het niet mogelijk het HI hersenschade proces na te bootsen met in vitro systeem. Daarnaast wordt ook het gedrag van de dieren (motoriek en geheugen) bestudeerd.

Titel studie: The role of Epac1 in inflammatory hyperalgesia
DEC nummer: 2012.I.02.017

De rol van Epac1 in ontstekingspijn
Achtergrond: Een belangrijk deel van de patiënten met een ontsteking blijft pijn houden, nadat de ontsteking genezen is. Deze vorm van chronische pijn is moeilijk te behandelen, vooral omdat niet bekend is welke mechanismen er aan ten grondslag liggen. Uit eerder onderzoek is gebleken dat het molecuul EPAC1 mogelijk een belangrijke rol speelt. Er zijn geen remmers van Epac1 bekend die de onderzoekers zouden kunnen gebruiken om te testen of dit inderdaad het geval is.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is na te gaan wat de bijdrage van het molecuul Epac1 is aan blijvende pijn na ontsteking door gebruik te maken van muizen die geen Epac1 hebben (Epac1 knockout muizen).
Globale aanpak vraagstelling: Epac1 knockout muizen krijgen een milde ontstekingsprikkel in de poot en vervolgens gaan de onderzoekers na of dit de gevoeligheid voor pijn veranderd. Dit is een veel gebruikt modelsysteem om de mechanismen van chronische pijn te onderzoeken.

Titel studie: Pilot study on chemotherapy-induced neuropathic pain in mic
DEC nummer: 2012.I.02.018

Pilot-studie van chemotherapie geïnduceerde neuropathische pijn bij muizen
Achtergrond: Chemotherapie-geïnduceerde pijn is een veel voorkomend klinisch probleem en een veel voorkomende oorzaak voor het vroegtijdig stoppen van de therapie. Het is nog niet bekend hoe chemotherapie pijn veroorzaakt. De onderzoekers hebben laten zien dat het molecuul GRK2 een belangrijke regulator van de pijnrespons is en dat ze door GRK2 te verhogen chronische pijn kunnen voorkomen. De onderzoekers willen nu de rol van de GRK2 onderzoeken in de chemotherapie-geïnduceerde pijn
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om een chemotherapie-geïnduceerde pijn
model te valideren dat ze later willen gebruiken voor onderzoek naar de mogelijkheden om via GRK2 chemotherapie-geïnduceerde pijn te behandelen.
Globale aanpak vraagstelling: De muizen zullen twee verschillende chemotherapie behandelingen ondergaan die gekozen zijn op basis van het gebruik in de kliniek. De onderzoekers zullen nagaan of deze behandelingen de pijngevoeligheid versterken en ze zullen nagaan wat de effecten op schade aan de zenuwen en op het gehalte van GRK2 is.

Titel studie: Characterization of GI pathology and study of degeneration process in a Parkinson's disease mouse model induced with pesticide rotenone
DEC nummer: 2012.I.02.019

Onderzoek naar de motor en non-motor symptomen van de ziekte van Parkinson ten einde nieuwe targets te vinden voor interventie

Achtergrond: De ziekte van Parkinson (PD) is na de ziekte van Alzheimer, de meeste voorkomende ouderdomsziekte van het zenuwstelsel met een prevalentie van 1-3 % in ouderen boven 65 jaar. Het wordt gekenmerkt door stoornissen in het bewegingsapparaat (traagheid, bewegingsarmoede, stijfheid en beven), de zgn. motorische symptomen, maar ook door non-motorische symptomen. Er is geen geneesmiddel tegen PD, ondanks veel investeringen door de farmaceutische industrie.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om een muismodel op te zetten dat het gehele spectrum aan symptomen van PD vertoont. Het uiteindelijke doel is om nieuwe targets te vinden voor therapeutische interventie.

Globale aanpak vraagstelling: Het diermodel wordt geïnduceerd door infusie van een kleine hoeveelheid rotenone in het brein. Rotenone is een chemische stof die aangrijpt op een proces dat ook bij de ziekte verstoord is. Bovendien hebben epidemiologische studies een correlatie laten zien tussen blootstelling aan deze stof en het risico op PD. De onderzoekers gaan in deze aanvraag de motorische en de non-motorische symptomen van de ziekte onderzoeken.

Titel studie: De rol van MICAL-eiwitten in de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan de ontwikkeling van neuronale netwerken
DEC nummer: 2012.I.02.020

De rol van MICAL-eiwitten in de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan de ontwikkeling van zenuwbanen en hun netwerken

Achtergrond: Het onderzoek richt zich op de functie van eiwitten die zenuwuitlopers de goede richting op sturen (Semaforine eiwitten), eiwitten die verbindingen maken tussen cellen (neurale adhesie moleculen) en eiwitten die signalen aan de binnenkant van de hersencellen doorgeven (MICAL eiwitten) tijdens de ontwikkeling van neuronale netwerken. De kennis die hierbij wordt vergaard is erop gericht (gedrags-)stoornissen als gevolg van een verstoorde ontwikkeling van hersenbanen, zoals autisme of schizofrenie, te bestrijden.

Doel/hypothese: Het doel van dit project is inzicht te verschaffen in de moleculaire werking van MICAL-eiwitten, met name in de vorming van de hippocampus, een hersengebied dat heel belangrijk is voor leren en geheugen, omdat deze in de mutanten afwijkend is. Het effect van deze afwijkingen willen de onderzoekers verder onderzoeken.

Globale aanpak vraagstelling: Het effect van MICAL-eiwitten op de aanwezigheid van groepen eiwitten op het membraan en in het cytoplasma van de hippocampale cellen zal onderzocht worden met membraanfracties van een specifiek hersengebied waarin het defect goed te zien is: de hippocampus. Ook zullen secties worden gemaakt van de hippocampus en hippocampale neuronen worden gekweekt om hun ontwikkeling te volgen, de aanwezigheid van neuronale adhesiemoleculen te bepalen en te kijken naar hun gevoeligheid voor axon-sturende eiwitten (Semaforines). Hiervoor zijn proefdieren nodig. De onderzoekers zullen een MEF (mouse embryonic fibroblast) cellijn maken van muizen met en zonder MICAL eiwitten. Dit geeft de mogelijkheid bepaalde experimenten in een celkweek te doen en zo het aantal dieren te verminderen. Daarnaast zullen muizen zonder het MICAL eiwit gekruist worden met muizen die 'Cre' tot expressie brengen in een specifiek hippocampaal deel, wat een methode is om alleen in bepaalde cellen een eiwit uit te schakelen, om de oorsprong van het fenotype te kunnen bepalen.

Titel studie: Effects of predation on social learning in guppy
DEC nummer: 2012.I.02.021

De invloed van predatie op sociaal leren in guppy
Achtergrond: Sociaal leren beschrijft het leren van soortgenoten in plaats van individueel leren op basis van eigen ervaringen. Verwacht wordt dat sociaal leren belangrijker is wanneer het risico op predatie groot is. Er is sprake van predatie door een organisme als dat organisme een ander soort organisme, het prooidier, vangt, doodt en opeet. Tot op heden is er weinig bewijs voor deze hypothese en daarom willen de onderzoekers dit testen in twee verschillende guppy populaties: de wilde en de gedomesticeerde guppy (Poecilia reticulata). Deze populaties zijn onderhevig aan verschillende predatiedrukken. Guppy's kunnen zeer goed sociaal leren en zijn daarom zeer geschikt om de invloed van predatiedruk op sociaal leergedrag te bestuderen als ook te bekijken of de variatie in gedrag gelinkt is aan variatie in neurohormonen.
Doel/hypothese: Aangezien verwacht wordt dat de neiging om sociaal te leren afhankelijk
is van het risico op predatie, voorspellen de onderzoekers dat de wilde guppy's die hoge predatiedruk ervaren meer sociaal leergedrag vertonen dan de gedomesticeerde guppy's die geen predatie ondervinden. Ook aangenomen wordt dat de rol van neurohormonen zorgt voor variatie in sociaal leergedrag.
Globale aanpak vraagstelling: Er zullen drie guppy populaties worden bestudeerd: wilde guppy's onder hoge of lage predatiedruk uit Burgers' Zoo, Arnhem, en gedomesticeerde guppy's. Sociaal leren van foerageren en ontsnappen zullen worden geobserveerd in Burgers' Zoo en in het laboratorium. De neurale mechanismen verantwoordelijk voor de variatie in sociaal leren zal worden bestudeerd door de effecten van administratie van neurohormonen op sociaal leren te meten en door het lokaliseren en kwantificeren van neurohormonen in de hersenen van guppy's onder hoge predatiedruk en zonder predatie. Deze guppy populaties bieden een unieke kans om de snelle evolutionaire gevolgen op sociaal gedrag en leren te bestuderen en dit type onderzoeksvragen kan alleen beantwoord worden door experimenten met dergelijke dierpopulaties onder gecontroleerde selectiedrukken.

Titel studie: Emotional response and judgement bias in piglets with low birth weigh
DEC nummer: 2012.I.02.022

Gevolgen van een laag geboortegewicht op de emotionele toestand bij varkens
Achtergrond: Ter verbetering van het welzijn van dieren, is het belangrijk om te weten hoe het dier voelt over zijn omgeving. Wij kunnen echter niet zomaar een dier vragen hoe het voelt. Hoe dieren hun omgeving interpreteren kan een maat opleveren voor het beoordelen van hun welzijn. Onderzoek heeft aangetoond dat mensen in een meer negatieve stemming de dingen en gebeurtenissen om hen heen negatiever beoordelen (bv. het glas is half leeg). Het is mogelijk, deze beoordelingen te gebruiken om de emotionele staat van een dier te meten. Bij mensen beïnvloedt een laag geboortegewicht de emotionele ontwikkeling. Bij varkens komen tomen met een of meerdere biggen met een laag geboortegewicht vaak voor. Het aangevraagde experiment zal de onderzoekers in staat stellen te onderzoeken of biggen met een laag geboortegewicht niet eenduidige gebeurtenissen als positief of negatief ervaren.
Doel/hypothese: Varkens met een laag geboortegewicht maken negatievere systematische
beoordelingsfouten met betrekking tot ambigue gebeurtenissen dan biggen met een normaal geboortegewicht, dat wil zeggen laag geboortegewicht varkens zijn pessimistischer.
Globale aanpak vraagstelling: 13 biggen met een normaal geboortegewicht en 13 biggen met een laag geboortegewicht worden ingezet. De dieren worden getraind om 4 beloningen te verdienen na presentatie van een positief signaal, en 1 beloning na presentatie van een negatief signaal. Zodra de dieren deze taak correct en consistent uitvoeren worden er ambigue signalen aangeboden, die tussen het positieve en het negatieve signaal liggen waarop ze eerder werden getraind. De mate waarin ze op deze ambigue signalen meer reageren alsof ze het positieve signaal aangeboden kregen, of reageren alsof the het negatieve signaal aangeboden kregen, dient als indicatie voor de emotionele status van de biggen.

Titel studie: De rol van Neogenin in neuronale migratie en ontwikkeling van het zenuwstelsel
DEC nummer: 2012.I.02.023

De rol van Neogenin in neuronale migratie en ontwikkeling van het zenuwstelsel
Achtergrond: Ontwikkelingsstoornissen van de hersenen kunnen zich uiten in gedragsafwijkingen bij kinderen en jong volwassenen. De ontwikkeling van het netwerk van zenuwcellen in het brein wordt o.a. gereguleerd door 'axon guidance' moleculen. Deze moleculen kunnen beschouwd worden als regeleenheden die de identiteit van cellen mede bepalen en de ontwikkeling van een cel in goede banen leidt. In dit onderzoek richten de onderzoekers zich op een van deze moleculen; Neogenin. Hiervan is eerder aangetoond dat het zeer belangrijk is voor de correcte ontwikkeling van de hersenen. Bovendien hebben vorige experimenten aanwijzingen gegeven welke interactoren en specifieke cellulaire processen bij dit molecuul betrokken zijn.
Doel/hypothese: Het ontbreken van Neogenin heeft desastreuze gevolgen voor de hersenontwikkeling, maar er is nog weinig bekend over het exacte werkingsmechanisme. Het doel van dit project is om in meer detail inzicht te verschaffen in de moleculaire werking van Neogenin en betrokken interactoren in de migratie van neuronen en het vormen van neuronale netwerken tijdens de ontwikkeling.
Globale aanpak vraagstelling: Dit onderzoek zal kijken naar de rol van Neogenin signaaltransductie tijdens de vroege ontwikkeling van zenuwcellen dmv in vitro kweken. Er zal daarnaast gekeken worden naar Neogenin en haar interactoren binnen de complexe interactie van moleculaire processen die betrokken zijn bij de gehele hersenontwikkeling met behulp van in en ex vivo studies. Vanwege de complexiteit van de hersenen gebruiken de onderzoekers o.a. het relatief eenvoudig georganiseerde en goed beschreven cerebellum van de muis als modelsysteem.

Titel studie: Cognitive effects of soluble high-n oligomers of beta-amyloid, a pilot stud
DEC nummer: 2012.I.02.024

De rol van oplosbare beta-amyloid oligomeren bij het ontstaan van de ziekte van Alzheimer: een pilot studie in ratten
Achtergrond: De ziekte van Alzheimer is vooral een oude-mensen-ziekte en leidt tot leer- en geheugenproblemen en uiteindelijk tot de dood. Een overmaat van het eiwit beta-amyloid in de hersenen veroorzaakt mogelijk de ziekte van Alzheimer. Het eiwit beta-amyloid heeft de neiging om te klonteren en het idee is dat deze klonters zorgen voor het afsterven van zenuwcellen.
Doel/hypothese: De onderzoekers willen in ratten bekijken of het direct in de hersenen inspuiten van een bepaalde vorm van beta-amyloid (oligomere vorm) leidt tot leer- en geheugenproblemen.
Het uiteindelijke doel is om een diermodel te ontwikkelen voor de ziekte van Alzheimer. In zo'n diermodel kunnen vervolgens nieuwe behandelingsvormen worden getest.
Globale aanpak vraagstelling: Beta-amyloid zal direct in de hersenen (in het ventrikel) worden ingespoten. De onderzoekers verwachten dat ten gevolge van deze behandeling zenuwcellen zullen doodgaan en dat er een leer- en geheugendefecten zullen optreden. Het leer- en geheugenvermogen van de ratten zal in verschillende testen worden gemeten. Leren en herinneren zijn zeer complexe gedragingen waarbij vele verschillende hersengebieden zijn betrokken. Dergelijke complexe gedragingen zijn uniek voor een levend dier en kunnen onmogelijk volledig worden onderzocht met geïsoleerde cellen.

Titel studie: Deafness induction in mice: The effects of the time interval between kanamycin and furosemide administration
DEC nummer: 2012.I.02.025

Doofheid induceren bij muizen: De relevantie van een korter tijdsinterval tussen de kanamycine en de furosemide toediening

Achtergrond: Mensen met gehoorverlies kunnen in aanmerking komen voor een cochleair implantaat dat een gehoorsensatie opwekt door directe elektrische stimulatie van de gehoorzenuw. Het succes van deze techniek is echter afhankelijk van een intacte gehoorzenuw die juist afsterft als gevolg van langdurig gehoorverlies. Recente ontwikkelingen geven aanwijzingen dat stamcellen gebruikt kunnen worden om de gehoorzenuw te versterken. Maar, om onderzoek te kunnen doen naar stamcellen als eventuele therapie is een muismodel nodig dat de doofheid van mensen simuleert. Een voorgaande studie heeft uitgewezen dat het mogelijk is muizen doof te maken. Het probleem is echter dat hier extreem hoge toxische concentraties van een bepaald antibioticum (kanamycine) voor gebruikt moeten worden, en er een onvolledig effect optreedt. Ook heeft de voorgaande studie aanwijzingen gegeven dat het mogelijk is meer doofheid te induceren met minder kanamycine wanneer er een diureticum (een medicijn dat vocht afdrijft) voor en/of direct na de antibiotica behandeling wordt gegeven in vergelijking met de conventionele methode bij cavia's waarbij na acht minuten de furosemide wordt toegediend. Door deze verandering zou doofheid efficiënter geïnduceerd kunnen worden, met een minder toxische concentratie.

Doel/hypothese: Doofheid kan efficiënter geïnduceerd worden in muizen wanneer er vlak voor, en/of direct na de kanamycine behandeling een diureticum wordt toegediend, in vergelijking met de conventionele methode waarin na meer dan tien minuten de kanamycine wordt toegediend.

Globale aanpak vraagstelling: De gehoorzenuw en sensorische cellen van het oor zullen onderzocht worden in muizen die behandeld worden met een combinatiebehandeling kanamycine en furosemide. Twee controle dieren zullen behandeld worden met fysiologisch zout. De experimentele groepen zijn als volgt ingedeeld: Groep 1: 6 dieren die met furosemide (100 mg/kg i.v.) behandeld zullen worden twee minuten voor de kanamycine behandeling (700 mg/kg i.v.). Groep 2: 6 dieren die met furosemide behandeld zullen worden binnen twee minuten na de kanamycine behandeling. Groep 3: 6 dieren die met furosemide behandeld zullen worden tien minuten na de kanamycine behandeling. Hiermee kan aangetoond worden door middel van welke volgorde en tijdsinterval de gehoorzenuw het meest efficiënt aangetast raakt. Het experimenteren met stamcellen maakt proefdieren noodzakelijk. Muizen fungeren al lange tijd als achtergrond bij dergelijke experimenten.

Titel studie: Pilot studie kleuring voor activatie GABAerge neuronen in zebravinken
DEC nummer: 2012.I.02.026

Hoe is een zebravinkenliedje in de hersenen gerepresenteerd?

Achtergrond: Zangvogels worden gebruikt als voorbeeld voor menselijke taalvorming en leren. Inmiddels is bekend welke gebieden in de hersenen betrokken zijn bij het zanggeheugen, maar deze gebieden bestaan uit veel verschillende typen cellen. De onderzoekers willen nu een methode ontwikkelen om te kunnen zien welke typen hersencellen specifiek geactiveerd zijn tijdens het luisteren naar een liedje dat de vogels geleerd hebben. De methode zal specifiek de hersencellen die remmend inwerken op andere cellen een karakteristieke kleur geven, waardoor ze duidelijk zichtbaar zijn.

Doel/hypothese: De onderzoekers willen een methode creëren die hun in staat stelt in lopend onderzoek een bepaald type hersencel te kleuren. Op deze manier kunnen ze bepalen of de hersencellen die betrokken zijn bij zanggeheugen van dat specifieke type zijn, of juist niet. Hierdoor kunnen ze in de toekomst nog meer leren over de vorming van geheugen per onderzoek, dus zonder dat er extra dieren opgeofferd worden.

Globale aanpak vraagstelling: De onderzoekers laten een zebravink een liedje horen. Vervolgens kleuren ze de hersencellen met twee verschillende antilichamen: 1) Zenk, om celactiviteit te visualiseren; 2) GAD, een kleuring specifiek voor een type hersencel. Op deze manier kunnen ze bepalen of de actieve cellen van dat specifieke type zijn, of juist niet. Dit doen ze in een aantal hersenplakjes en beoordelen het resultaat. Hierna verfijnen ze het protocol totdat ze een goed werkende methode hebben ontwikkeld. Als dit lukt, gaan ze dit toepassen op een reeds lopend onderzoek en op onderzoeken in de toekomst, zodat er voortaan hopelijk meer resultaten uit elk onderzoek gehaald kunnen worden.

Titel studie: The effect of Osteopontin treatment on neonatal hypoxic-ischemic brain injury
DEC nummer: 2012.I.02.027

Invloed van Osteopontine op, door zuurstoftekort veroorzaakte, hersenschade in pasgeborenen
Achtergrond: Hersenschade bij baby's door zuurstoftekort rondom de geboorte is een groot en veel voorkomend probleem met grote gevolgen voor de ontwikkeling later in het leven. Er is nog weinig bekend over hoe deze hersenschade precies ontstaat, daarbij zijn de behandelingsmogelijkheden zeer beperkt. Osteopontine is een eiwit dat belangrijk is voor o.a. celoverleving en -ontwikkeling. Door Osteopontine toe te dienen kan de hersenschade mogelijk verminderd worden dan wel hersteld worden. Dit zou kunnen leiden tot een therapie bij de pasgeboren baby's en zorgen voor een betere prognose en ontwikkeling.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is te onderzoeken wat het effect is van Osteopontine behandeling op hersenschade bij pasgeboren muizen en te bepalen wat het best werkende tijdschema van toediening, gegeven via de neus of via de buikholte, is. Naast het effect op hersenschade willen de onderzoekers ook kijken of de dieren die behandeld worden met Osteopontine beter functioneren (geheugen en motoriek).
Globale aanpak vraagstelling: Het zuurstofgebrek in de hersenen wordt nagebootst in pasgeboren muizen (dag 9 na de geboorte). De muizen worden hierna behandeld met de Osteopontine of met oplosmiddel via de buikholte of neus. Er wordt op verschillende tijdstippen vergeleken; er wordt na 28 of 42 dagen gekeken naar de werkzaamheid van Osteopontine, op zowel celdood en celontwikkeling, als ontstekingswaarden, hersenschade (anatomisch) en motorische vaardigheden en de geheugen/cognitie.

Titel studie: Spreading depolarization in experimental subarachnoid hemorrhage, improving models and testing potential therapeutics and mechanisms
DEC nummer: 2012.I.02.029

Voorkomen van herseninfarcten die soms na hersenbloedingen ontstaan
Achtergrond: Subarachnoïdale bloeding komt bij relatief jonge patiënten voor en is een oorzaak van sterfte en handicap. De bloeding heeft niet alleen direct hersenschade tot gevolg, er ontstaan soms ook infarcten in de weken na de bloeding. De onderzoekers denken dat die infarcten veroorzaakt worden door spreading depolarizations, een mechanisme dat oorspronkelijk vooral in verband gebracht werd met migraine aanvallen.
Doel/hypothese: Het proefdiermodel voor infarcten die optreden na een hersenbloeding verbeteren. Het voorkomen van de infarcten, door een medicijn dat spreading depolarizations voorkomt. Daarmee ook meer begrijpen over de oorzaak van deze infarcten.
Globale aanpak vraagstelling: In eerste instantie wordt geprobeerd een SubArachnoïdale Bloeding (SAB) op te wekken, terwijl ratten in de MRI scanner liggen. Die ratten worden verdeeld in twee groepen, dit om te kijken of de groep die het medicijn Tonabersat krijgt (dat spreading depolarizations remt), kleinere infarcten heeft. In tweede instantie wordt gewerkt met een groep ratten waarbij eerst een SAB wordt opgewekt. Later worden door boorgaatjes in het hoofd, m.b.v. kalium, spreading depolarizations opgewekt in de andere hersenhelft dan de SAB. Infarctgrootte, doorbloeding en spreading depolarizations worden ook in deze groep gemeten m.b.v. MRI.

Titel studie: Moleculaire beeldvorming van muis en rat (UTRECHT)
DEC nummer: 2012.I.03.030

Moleculaire beeldvorming van muis en rat (UTRECHT)
Achtergrond: Deze groep ontwikkelt gespecialiseerde SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography)/PET (Positron Emission tomography)/CT (Computed Tomography) scanners om de biologische activiteit van moleculen driedimensionaal zichtbaar te maken in kleine levende proefdieren zoals muizen en ratten. Veel van het onderzoek kan plaats vinden op modellen. Toch zal er uiteindelijk soms gebruik moeten worden gemaakt van proefdieren om de werking van de apparatuur te kunnen valideren.
Doel/hypothese: Het ontwikkelen en verfijnen van de verschillende SPECT/PET/CT systemen met verschillende instellingen en soorten radioliganden.
Globale aanpak vraagstelling: Alhoewel veel onderzoek zal plaatsvinden op modellen, zal er uiteindelijk validatie moeten plaatsvinden in het levende dier. Voor een typisch experiment krijgt een dier een (voor het dier onschadelijke) kleine hoeveelheid radioactief gelabelde moleculen (radioliganden) ingespoten, die aan specifieke biologische moleculen zullen binden. De scanners detecteren de uitgezonden radioactieve straling op verschillende manieren en kunnen zo driedimensionale distributies berekenen van het te onderzoeken biologische molecuul in het levende dier.

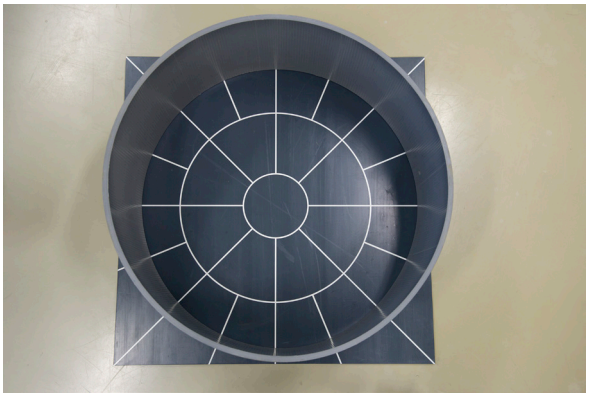
Titel studie: Moleculaire beeldvorming van muis en rat (DELFT)
DEC nummer: 2012.I.02.031

Moleculaire beeldvorming van muis en rat (DELFT)
Achtergrond: Deze groep ontwikkelt gespecialiseerde SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography)/PET (Positron Emission tomography)/CT (Computed Tomography) scanners om de biologische activiteit van moleculen driedimensionaal zichtbaar te maken in kleine levende proefdieren zoals muizen en ratten. Veel van het onderzoek kan plaats vinden op modellen. Toch zal er uiteindelijk soms gebruik moeten worden gemaakt van proefdieren om de werking van de apparatuur te kunnen valideren.
Doel/hypothese: Het ontwikkelen en verfijnen van de verschillende SPECT/PET/CT systemen met verschillende instellingen en soorten radioliganden.
Globale aanpak vraagstelling: Alhoewel veel onderzoek zal plaatsvinden op modellen, zal er uiteindelijk validatie moeten plaatsvinden in het levende dier. Voor een typisch experiment krijgt een dier een (voor het dier onschadelijke) kleine hoeveelheid radioactief gelabelde moleculen (radioliganden) ingespoten, die aan specifieke biologische moleculen zullen binden. De scanners detecteren de uitgezonden radioactieve straling op verschillende manieren en kunnen zo driedimensionale distributies berekenen van het te onderzoeken biologische molecuul in het levende dier.

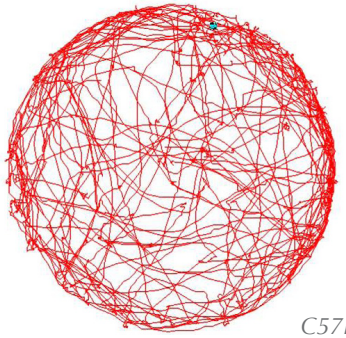
Vergadering 14 maart 2012

Titel studie: Practicum Screening Psychofarmacologie en Open Veld Test, major-gebonden keuzecursus Alg. Farmacologie (Biomedische Wetenschappen)
DEC nummer: 2012.I.03.032

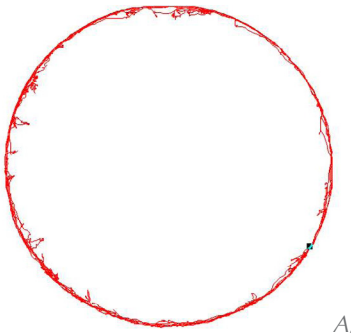
Screening van psychoactieve middelen
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Het doel van dit practicum is dat de student - aan de hand van eigen observaties - het gedragsprofiel vaststelt van een aantal belangrijke klassen van pychofarmaca. De student verdiept daarbij zijn/haar kennis van en inzicht in de werkingsmechanismen van de klassen van psychofarmaca waartoe de farmaca behoren. De student krijgt informatie over de mogelijkheden en moeilijkheden betreffende de ontwikkeling van nieuwe psychofarmaca en, verwerft tevens inzicht in het fenomeen biologische variatie. Als laatste geeft dit practicum de student de mogelijkheid in aanraking te komen met proefdieren en het proefdiergebruik.
Globale aanpak van het onderwijselement: De student zal in een groep van 2-3 studenten de gedragsprofielen van twee verschillende psychofarmaca (morfine, cafeïne, amfetamine, haloperidol, apomorfine of diazepam) en een placebo observeren in verschillende (eenvoudige) gedragstesten bij ratten.



Open veld gedragstest.



C57BL/6J



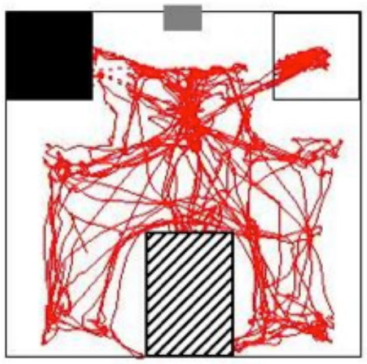
A/J

Het open veld is een gedragstest waarbij de exploratie in een nieuwe omgeving wordt geobserveerd. In de onderste twee figuur panels is de locatie van de muis vastgelegd tijdens een 10 minuten durende open veld observatie met behulp van een video-tracking systeem. De mate van exploratie van de A/J inteeltstam muis is duidelijk verlaagd t.o.v. de mate van exploratie van de C57BL/6J inteeltstam. Daarnaast brengt de A/J muis geen bezoeken in het centrum van het open veld, een maat die duidt op verhoogd angstgedrag in de nieuwe omgeving.

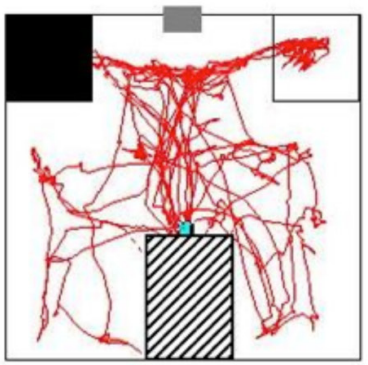




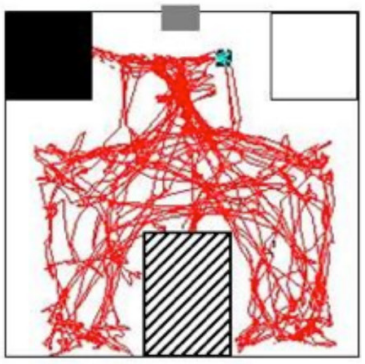




C57BL/6J

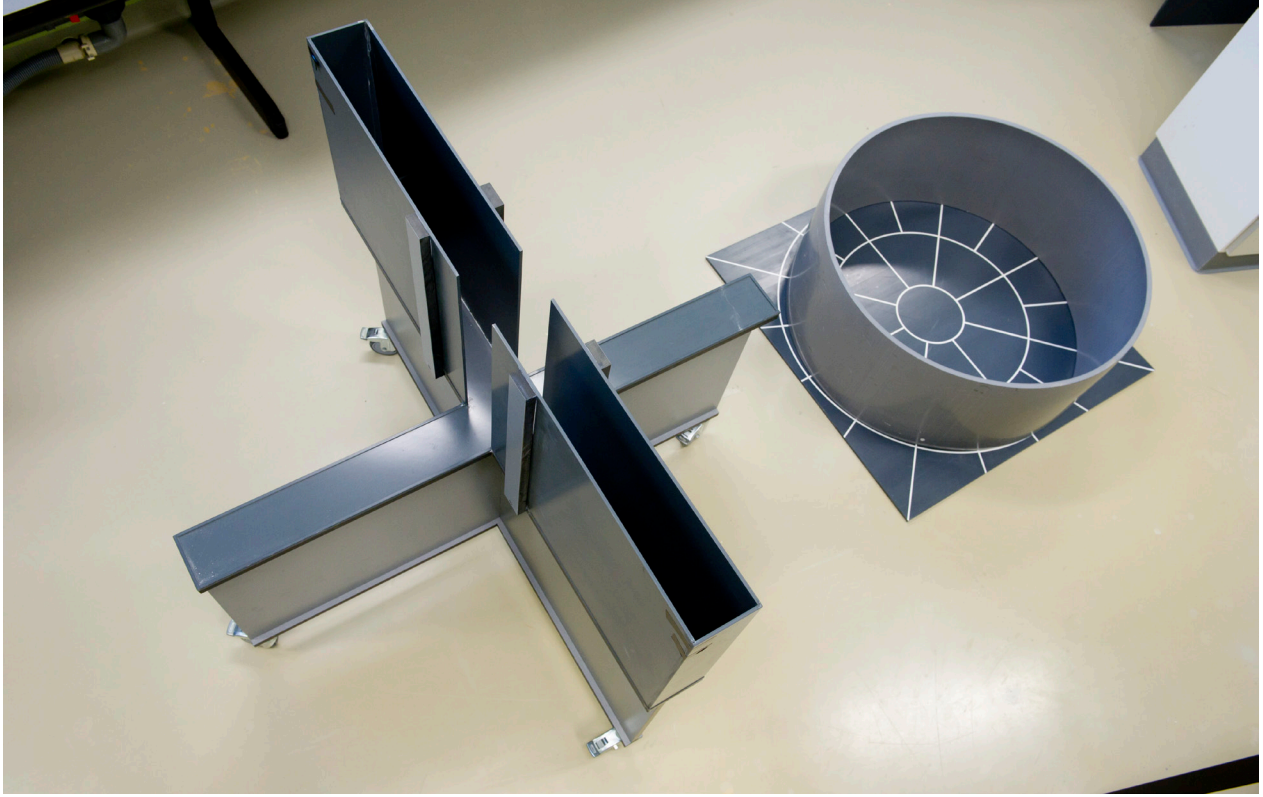


CS-strain 1



CS-strain 15

Het langdurig meten van gedrag in de thuiskooi van knaagdieren geeft de mogelijkheid om gedragsmaten tijdens baseline condities te observeren, zoals eet- en drinkgedrag, 24-uurs ritme, en schuilgedrag. In de afgebeelde thuiskooi kan de voorkeur om in een beschutte omgeving te eten worden bepaald, doordat een muis kan kiezen voor een beschutte en een onbeschutte voedselplaats. In de onderste panelen is te zien dat de "CS-strain 15" muizenlijn een verhoogde voorkeur heeft voor het eten bij de beschutte voedselplaats (gerepresenteerd door het zwarte vierkant) t.o.v. de onbeschutte voedselplaats (gerepresenteerd door het witte vierkant). De rode lijnen geven de locatie van muis in de tijd weer. Recent onderzoek laat zien dat deze gedragseigenschap bij muizen (voorkeur voor beschut eten) overeenkomsten heeft met gedragseigenschappen bij mensen met een stemmingsstoornis.



Naast het open veld gedrag kan ook onderzoek worden gedaan naar de exploratie van knaagdieren in een zogenaamde 'elevated plus maze'. Dieren laten tijdens de exploratie zien dat ze wel of niet een verhoogde voorkeur hebben voor de beschutte armen t.o.v. de armen waarbij geen beschutting is.

Titel studie: Activering van het beloningssysteem op meta-plasticiteit in de amygdala bij ratten
DEC nummer: 2012.I.03.034

Stress-management door activering van het beloningssysteem: rol van de amygdala
Achtergrond: Stressvolle gebeurtenissen zijn een (niet te vermijden) onderdeel van het bestaan van mensen en dieren, zeker in sommige beroepen en houderijsystemen. Eerder is aangetoond dat zaken die belonend zijn de effecten van stressvolle gebeurtenissen dempen. Dit is van belang, omdat daarmee voorkomen kan worden dat mensen en dieren op termijn chronische stress, depressie of post-traumatische stress kunnen ontwikkelen. Om te zorgen dat mensen en dieren voldoende goed kunnen omgaan met stressoren is het van belang te begrijpen hoe en waarom activering van het beloningssysteem een rol kan spelen in stress-management. De rol van de amygdala of amandelkern, een structuur betrokken bij regulering van emoties, is daarbij cruciaal.
Doel/hypothese: Het doel is om te vast te stellen hoe beloningen opslag van emotioneel geladen informatie in de amygdala beïnvloeden. Het idee is dat activering van het beloningssysteem ervoor zorgt dat de impact van stressoren minder is.

Globale aanpak vraagstelling: Gedurende twee weken krijgen ratten tweemaal daags een afgepaste hoeveelheid suikerwater te drinken, terwijl de controle ratten water krijgen. Daarna worden ze onderworpen aan of een kortdurende stressor of niets. Hierna worden de dieren gedood en de vuursnelheid van neuronen in het basolaterale deel van de amygdala (BLA) gemeten. Het stresshormoon corticosteron wordt ook toegediend aan de hersenplakjes om veranderingen in de vuursnelheid van neuronen in hetzelfde gebied te meten.

Titel studie: De rol van de anti-inflammatoire cytokines IL-10 en TGF-beta in de regulatie van de transitie van acute naar chronische pijn
DEC nummer: 2012.I.03.035

De rol van de eiwitten IL-10 en TGF-beta in de regulatie van de transitie van acute naar chronische pijn
Achtergrond: Chronische pijn die blijft bestaan nadat mensen hersteld zijn van een ontsteking is een belangrijk klinisch probleem. Onderzoekers hebben een model ontwikkeld waarin muizen langdurig gevoelig blijven voor pijn nadat de ontsteking verdwenen is. Uit recente onderzoek blijkt dat het eiwit IL-10 een belangrijk rol speelt in de regulatie pijn.
Doel/hypothese: Doel van deze studie is na te gaan of het beschermende effect specifiek is voor IL-10.
Globale aanpak vraagstelling: De onderzoekers maken gebruik van een muismodel dat langdurig pijn ontwikkelt nadat de ontsteking verdwenen is. In deze studie willen de onderzoekers meer in detail onderzoeken hoe het “pijn mechanisme” werkt. Uit recente data blijkt dat het eiwit IL-10 een cruciale factor is in de regulatie van acute naar chronische pijn. In dit vervolgonderzoek wordt nagegaan of het beschermende effect specifiek is voor het eiwit IL-10. Dit gaan ze onderzoeken door een ander soortgelijk eiwit te gebruiken, namelijk TGF-beta, om het effect op de pijnresponse te bestuderen. Het eiwit TGF-beta zullen ze weghalen of juist toevoegen en de gevolgen hiervan op de hitte pijn response onderzoeken. Daarnaast hebben de onderzoekers gevonden dat een speciale celtype (macrofagen) belangrijk is voor de regulatie van pijn. In dit vervolgonderzoek willen ze nagaan wat met de pijn response gebeurt als ze deze macrofagen vervangen door andere macrofagen die niet het IL-10 eiwit hebben. Gevoeligheid voor hitte is geregeld op verschillende niveaus: daar waar de hittestimulatie wordt toegepast en de ontsteking (in de poot), op het niveau van het ruggenmerg (waar speciale pijn-cellen geactiveerd worden) en op het niveau van de hersenen die de informatie verwerken. De werking van een nieuwe pijnremmer op cellen is daarom geen garantie dat het ook in dieren werkt. De onderzoekers kunnen deze vraag dan ook niet anders dan met dierproeven in deze specifieke muizen beantwoorden.

Titel studie: The role of neuropeptides in the regulation of energy balance
DEC nummer:2012.I.03.036

De rol van genen in energiebalans
Achtergrond: Eetstoornissen zoals obesitas en anorexia zijn een groot probleem in de huidige maatschappij. Onderzoekers weten dat ze een belangrijke erfelijke component kennen, maar over de verantwoordelijke genen en hun functies is er nog weinig kennis. Om medicijnen te ontwikkelen tegen deze eetstoornissen is kennis over deze genen nodig.
Doel/hypothese: Om de functies van genen te onderzoeken die leiden tot eetstoornissen zoals obesitas en anorexia nervosa is het mogelijk de productie van genproducten in bepaalde hersenkernen te stoppen of juist te vermeerderen. Hierdoor is het mogelijk inzicht krijgen in de functie van deze genen en hun producten in relatie tot de regulatie van lichaamsgewicht.
Globale aanpak vraagstelling: Door de productie van genproducten te stoppen of te vermeerderen met behulp van virale technieken is het mogelijk om het eetgedrag van een dier te manipuleren. Het is mogelijk om door toepassing van deze technieken een dier meer of minder dan normaal te laten eten of zelfs te bewegen. Omdat er gekeken wordt naar het eetgedrag van een dier is noodzakelijk dat het dier intact is. Het is daarom helaas niet mogelijk om dit onderzoek te doen in computermodellen of cellijnen.

Titel studie: Effect of the 5-TH system on the memory, anxiety and stress behavior of Brown Nick laying hens
DEC nummer: 2012.I.03.037

Effect van het 5-TH systeem op geheugen en angst/stress gedrag bij Brown Nick leghennen
Achtergrond: Het functioneren van het 5-HT systeem dat verantwoordelijk is voor de productie van het hormoon serotonine heeft invloed op het gedrag van leghennen. Naast een belangrijke rol in het voorkomen van verenpikken bij leghennen heeft het functioneren van dit systeem tevens invloed op het functioneren van geheugen en het vertonen van angst/depressie gedrag van verschillende diersoorten en van mensen.
Doel/hypothese: Hypothese: Kippen met een verminderde functie van het 5-HT systeem vertonen meer angstgedrag en hebben problemen met herkenning van aspecten uit hun leefomgeving. Het doel van de studie is om welzijn onder leghennen te verbeteren en het begrip hiervan te vergroten.
Globale aanpak vraagstelling: Kippen van de Brown Nick line worden verdeeld in 3 groepen. Een groep krijgt een deels synthetisch dieet met een deficiënt aandeel (30%) van tryptofaan (essentieel voor de productie van serotonin), een groep krijgt een deels synthetisch dieet met een normaal tryptofaan niveau en een groep krijgt een standaard dieet met een normaal tryptofaan niveau. De controle groep is dus opgesplitst in 2 groepen waarbij 10 dieren hetzelfde voedsel krijgen als de testgroep en 10 dieren standaard voer krijgen om te zien of het synthetische voer verschil geeft vergeleken bij het normale dieet. De open veld test en de “human approach” test worden gebruikt om het angstniveau van de groepen te bepalen. Verder wordt het herkenningsvermogen (geheugen) van de kippen getest in een “social recognition test” in een Y-vormig doolhof.

Titel studie: De rol van MICAL-eiwitten in de ontwikkeling van neuronale netwerken: karakterisatie van het gedrag van de MICAL-1 KO muis
DEC nummer: 2012.I.03.038

Karakterisatie van de MICAL-1 knockout muis op een uitvoerige testbatterij voor gedrag
Achtergrond: Tijdens de ontwikkeling van de hersenen zijn er 1. eiwitten (Semaforine eiwitten) die zenuwuitlopers de goede richting op sturen, 2. eiwitten (neurale adhesie moleculen) die verbindingen maken tussen cellen en 3. eiwitten (MICAL) die signalen binnen in de hersencellen doorgeven. De onderzoekers hebben een muis die de MICAL eiwitten mist en bij dit dier zien ze een verstoring in de ontwikkeling van de hersenen. Uiteindelijk kunnen de onderzoekers met de informatie die zij verkrijgen door dit onderzoek, bepaalde psychiatrisch stoornissen zoals autisme en schizofrenie beter begrijpen en hopelijk bestrijden.
Doel/hypothese: Het effect van de afwijking die de onderzoekers zien in de muizen zonder MICAL eiwitten beter karakteriseren. In deze studie wordt bekeken of het gedrag van de mutant muis verstoord is.
Globale aanpak vraagstelling: MICAL-1 muizen (knockout en wildtype) worden op volwassen leeftijd onderworpen aan een testbatterij die de volgende elementen bevat: controle op algemene gezondheidsstatus, neurologische reflexen, agressie, locomotie, basale activiteit, angst en leertaken (voor lange en korte termijn geheugen en voor sociale als niet-sociale stimuli). Gedetailleerd onderzoek naar het gedrag van de muizen is alleen mogelijk in dieren, er is (nog) geen alternatief voor gedragstesten.

Titel studie: Remming van fosforylering van mitochondriaal p53 als neuroprotectieve therapie voor neonatale hypoxisch-ischemische hersenschade
DEC nummer: 2012.I.03.039

Beschermende effecten van het remmen van de fosforylatie van mitochondriaal p53 eiwit in een model van hypoxisch-ischemische hersenschade (zuurstofgebrek) in de pasgeboren rat
Achtergrond: 2000 pasgeborenen in Nederland maken rond de geboorte een ernstige mate van zuurstofgebrek (hypoxie-ischemie (HI)) door. Op dit moment zijn er geen effectieve behandelingsmogelijkheden. Kennis van de processen in de hersenen tijdens HI zijn belangrijk voor het opzetten van een gerichte beschermende therapie. Apoptotische (geprogrammeerde) celdood is een van de belangrijkste processen tijdens het ontstaan van HI hersenschade. Het eiwit p53 draagt bij aan het aanzetten van apoptotische celdood. De onderzoekers hebben in voorgaand onderzoek gevonden dat het remmen van p53 het ontstaan van hersenschade na HI in pasgeboren ratten voor een deel kan voorkomen. Het mechanisme achter de rol van p53 tijdens het ontstaan van HI hersenschade is echter nog niet ontrafeld. Wel konden zij laten zien dat verplaatsing van p53 binnen de cel naar de mitochondriën (de energiefabrieken van de cel) een vroeg proces is na HI en dat dit bijdraagt aan hersenschade.
Doel/hypothese: Doel van deze studie is onderzoeken of ratten die na HI behandeld
worden met een p53 remmer die de fosforylatie en daarmee de activiteit van het schadelijke p53 aan de mitochondriën voorkomt, minder hersenschade hebben dan ratten die behandeld worden met oplosmiddel. Dit geeft inzicht in de rol van p53 aan de mitochondriën en zal de uiteindelijke neuroprotectieve therapie met p53 remming effectiever kunnen maken.
Globale aanpak vraagstelling: Het zuurstofgebrek in de hersenen wordt nagebootst in pasgeboren ratten. De ratten worden hierna behandeld met de p53 remmer of als controle met het oplosmiddel. Allereerst kijken de onderzoekers op twee dagen na het HI insult of de remmer beschermend werkt op de hersenschade. Uit jarenlange ervaring met dit model weten ze dat dit tijdstip en bepaalde histologische markers goede voorspellers voor de mate van bescherming zijn. Verder kijken zij op 3 uur en 24 uur naar de mechanisme achter p53 remming (p53 fosforylatie en verplaatsing in de verschillende cel-compartimenten alsmede de effecten op apoptotische celdood). Ten slotte willen de onderzoekers een langetermijn experiment doen waarin zij zullen bekijken of de HI ratten na behandeling met de p53 remmers verbetering laten zien van hun motorische (bewegings) en cognitieve (geheugen) vaardigheden. Omdat HI hersenschade een complex proces is wat ontstaat door meerdere systemen. t.w. bloedcirculatie, de bloed-hersenbarrière en het immuunsysteem, is het niet mogelijk het HI hersenschade proces na te bootsen met in vitro systeem.

Titel studie: Generate a transgenic mouse with a floxed CYP17A1 allele
DEC nummer: 2012.I.03.040

Karakterisatie van stoornissen in de lever waarin de galzouthuishouding verstoord is
Doel/hypothese: 1 op de 200 zwangere vrouwen ontwikkelt een leveraandoening tijdens de
zwangerschap, zwangerschapscholestase, welke kan leiden tot vroeggeboorte of sterfte van de foetus. In het ontstaan van deze ziekte spelen genetische factoren en hoge concentraties vrouwelijke hormonen een rol. In dit onderzoek bestuderen de onderzoekers in muizen hoe vrouwelijke hormonen de galzouthuishouding in de lever verstoren. De onderzoekers denken dat deze hormonen de centrale regulator van de galzouthuishouding, FXR, remt en dat dit door het verhogen van Cyp17A1 zwangerschapscholestase veroorzaakt.
Belang van het genereren van het muismodel: Opheldering van verscheidene genetische factoren die ten grondslag liggen aan erfelijke cholestase syndromen zijn van groot belang voor de kennis omtrent galvorming. Deze zal gebruikt worden om de preventie en diagnose van patiënten met erfelijke en verworven vormen van cholestase te verbeteren en om nieuwe en betere behandelingen te ontwikkelen.

Titel studie: Biotechnische Trainingsdoelen
DEC nummer: 2012.I.03.041

Biotechnische trainingsdoelen
Achtergrond: Het is voor elk beroep van belang dat je, voordat je in de praktijk begint, een goede opleiding heb gevolgd en in de praktijkvaardigheden bent getraind. In deze aanvraag staat een aantal standaardtechnieken genoemd die binnen de afdeling gebruikt worden. Door nieuwe medewerkers en studenten hierop te trainen heeft dit een goede invloed op later uit te voeren experimenten.
Opzet van het onderwijselement: Door middel van deze aanvraag kunnen nieuwe medewerker of student eerst de te gebruiken technieken oefenen voordat ze actief betrokken raken bij dierexperimenten.
Ethische afweging: Het belang is ervoor zorg te dragen dat de biotechnische handelingen zeer goed geoefend worden en bekwaam gebeuren voordat men actief betrokken zal raken bij het dierexperimenteel onderzoek. Dit voorkomt onnodige variabiliteit, uitval in of herhaling van experimenten. Op deze manier bewerkstelligen de onderzoekers een minimale belasting voor de dieren.

Titel studie: Effect of local CRF 1 receptor blockade on fear acquisition in the serotonin transporter knock out rat
DEC nummer: 2012.I.03.042

Effect van blokkade van de CRF 1 receptor in specifieke hersengebieden op het kunnen identificeren van bedreigende situaties in ratten die het serotonine transportereiwit missen
Achtergrond: Een op de 10 mensen heeft last van angststoornissen. Een belangrijk kenmerk van angststoornissen, als paniekstoornis en posttraumatische stress stoornis, is dat patiënten moeite hebben om te bepalen wanneer een situatie bedreigend is of niet. Dit proces heet angstconditionering en de boodschapperstoffen serotonine en CRF spelen hierbij een belangrijke rol. Uit eerder onderzoek is gebleken dat ratten die het eiwit missen dat de hoeveelheid beschikbare serotonine in de hersenen regelt (serotonine transporter-knock-out ratten), niet leren welk signaal de bedreigende situatie aankondigt in een angst conditioneringstaak. In plaats daarvan schrikken deze dieren in de hele test situatie meer. Deze angstgeneralisatie is een fenomeen waar patiënten met een paniekstoornis ook last van hebben. In de serotonine transporter-knock-out ratten kan de angstconditionering genormaliseerd worden, als ze voor de leertaak een stof krijgen toegediend die de werking van CRF blokkeert (CRF1 receptor antagonist). N.a.v. voorgaande dierstudies is in gezonde vrijwilligers ook gekeken naar de invloed van de serotonine en CRF systemen op angstconditionering in een vergelijkbare leertaak. Gebleken is dat mensen die een bepaalde combinatie hebben van genen van het serotonine transportergen en het CRF 1 receptorgen een zelfde verstoorde angst conditionering laten zien in deze test. Dit bevestigt dat ook in mensen de interactie tussen serotonine en CRF heel belangrijk is bij angst conditionering. Er is echter nog niet bekend in welk hersengebied de CRF 1 receptor antagonist werkt. De twee hersengebieden die het meest waarschijnlijk betrokken zijn, zijn de basolaterale amygdala en de dorsale raphe nucleus.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is te bestuderen waar in de hersenen de CRF 1 receptor antagonist werkt bij het normaliseren van angst conditionering in de serotonine transporter knock-out rat.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie krijgen serotonine transporter knock-out ratten de CRF 1 receptor antagonist CP-154,526 lokaal toegediend in de basolaterale amygdala of de dorsale raphe nucleus voorafgaand aan de angst conditionerings procedure. Het gebruik van proefdieren is voor dit onderzoek noodzakelijk, omdat er gekeken wordt naar de invloed van (interacties tussen) verschillende neurotransmitter systemen op gedrag. Het is niet mogelijk dit soort specifieke mechanistische studies uit te voeren in mensen of ex vivo modellen.

Titel studie: Understanding the neurobiological substrates of normal (and disturbed) feeding behaviour
DEC nummer: 2012.I.03.043

De rol van leptine signalering in eetgedrag
Achtergrond: Met het snel stijgende percentage mensen dat lijdt aan obesitas, zowel in ontwikkelde als derde wereldlanden, wordt het steeds belangrijker om de onderliggende neuronale circuits die betrokken zijn bij de regulatie van voedselinname te begrijpen. Uitgebreide kennis over hoe deze neuronale circuits werken zal helpen om nieuwe targets voor medicijnen tegen overgewicht te vinden. Vandaag de dag wordt obesitas gezien als een verslaving aan eten veroorzaakt door zieke hersenen. Dit kan alleen verholpen worden farmacologisch ingrijpen. Leptine is een bekende speler in de regulatie van voedselinname. Dit onderzoek zal helpen bij het ontcijferen van de rol van leptine signalering in voedselinname en voedselkeuze.
Doel/hypothese: De hypothese is dat de leptine receptor knock-down rat een obees
fenotype (verhoogd lichaamsgewicht, meer vet massa, leptine ongevoeligheid) zal vertonen. Ook bestuderen de onderzoekers het effect van leptine receptor knock-down op de keuze voor een hoog vet dieet met veel suiker en de gevolgen daarvan op hartfalen.
Globale aanpak vraagstelling: Het bestuderen van het leptine receptor knock-down dier zal een
tweeledig doel dienen. 1) Het zal helpen begrijpen wat de bijdrage van leptine signalering is in de ontwikkeling en progressie van obesitas en 2) omdat de leptine receptor knock-down rat een van de eerste transgene ratten is gegenereerd in ons lab willen de onderzoekers het fenotype (voedselinname, lichaamsgewicht, leptine sensitiviteit) vergelijken met de reeds bekende fenotypes bij muizen. Dit stelt de onderzoekers in staat om te bevestigen of de huidige transgenese methode die wordt gebruikt voor genetische knockdown van verschillende genen (in dit geval leptine receptor) ook een gedrags- of functioneel fenotype geeft.

Titel studie: Karakterisering van het tijdsprofiel van T cel infiltratie na beroerte
DEC nummer: 2012.I.03.044

Het afbeelden van ontstekingscellen in de hersenen na een beroerte
Achtergrond: Na afloop van een beroerte ontstaat een ontstekingsreactie. Onderzocht wordt wanneer, en in welke mate, een bepaald type ontstekingscel de hersenen in migreert en hoe dit verband houdt met het resulterende infarct alsmede het herstel hiervan.
Doel/hypothese: De hypothese is dat een grote hoeveelheid aan infiltrerende ontstekingscellen in de hersenen het resulterende infarct zal vergroten en het herstel hiervan zal vertragen.
Globale aanpak vraagstelling: Dieren zullen gedood worden en de milt zal worden uitgenomen. Vervolgens zullen de onderzoekers een specifieke cel populatie, T cellen, isoleren uit de milt. Hierna zullen ze deze cellen opladen met MRI contrastmiddelen, zodat ze de T cellen kunnen zien met MRI.
Het inzetten van proefdieren is hierbij noodzakelijk aangezien infiltratie van ontstekingscellen in de hersenen en het effect hiervan op het ontstaan en herstel van het infarct, niet na te bootsen valt met in vitro experimenten. Daarnaast hebben de onderzoekers donormuizen nodig, omdat ze de T cellen van deze muizen na het opladen met MRI contrastmiddelen in gaan spuiten in muizen die een beroerte hebben gehad. Om een klinisch relevante situatie te creëren moeten ze hiervoor cellen isoleren uit een zelfde type muis als de muizen met een beroerte. Indien de onderzoekers dit niet doen, zullen de cellen afgestoten worden .

Titel studie: Behavioral and neuroanatomical characterization of Pcdh9 knockout mouse
DEC nummer: 2012.I.03.046

Een gedragsmatig en neuroanatomische karakterisatie van een muis met sociaal geheugenverlies
Achtergrond: Sociale gedragsproblemen zijn een fundamenteel probleem bij psychiatrische ziektes zoals autisme en schizofrenie. De oorzaken van deze sociale uitval zijn uiterst complex en zijn daarom moeilijk te onderzoeken. Recent hebben de onderzoekers een gen (Protocadherine 9; Pcdh9) gevonden dat selectief het zogenoemde sociale geheugen in muizen aantast, namelijk het vermogen om bekende van onbekende soortgenoten te onderscheiden. Interessant is dat dit zelfde gen in meerdere studies is geassocieerd met autisme in mensen, hetgeen suggereert dat Pcdh9 een regulerende rol op sociaal gedrag in zowel mensen als in muizen heeft. Dit maakt de muis zonder Pcdh9 tot een uniek model voor het bestuderen van genetische mechanismen in sociale cognitie. Verder hebben de onderzoekers eerder ook afwijkingen in de hersenschors bij de muizen zonder Pcdh9 gevonden, die mogelijk de afwijkingen in sociaal geheugen kunnen verklaren. Ze vonden verdunningen in de hersenschors die opmerkelijk beperkt waren tot twee gebieden die betrokken zijn bij de complexe informatieverwerking in het brein. Deze hersenschors-gebieden zouden ook belangrijk kunnen zijn voor het verwerken of vasthouden van sociale informatie tijdens de sociaal geheugen test. Al met al kan het verder onderzoeken van de veranderingen in gedrag en hersenen bij deze muis belangrijke inzichten geven die relevant kunnen zijn voor stoornissen van sociaal gedrag zoals autisme.
Doel/hypothese: Karakterisatie van het gedrag en hersenanatomie van de Pcdh9 knockout muis om een genetisch mechanisme bloot te leggen dat belangrijk is voor het vasthouden van sociaal geheugen via de “sociale” hersenschors.
Globale aanpak vraagstelling: De opzet van het onderzoek is om verder inzicht na eerder bevindingen in het muizen model met deficiëntie van het Pcdh9 gen te verkrijgen: Pcdh9 knockout en C57BL6/J wild-type (WT) muizen zullen op verschillende tijdspunten gericht worden onderzocht op gedrag en hersenmorfologie om zo de eerder gevonden relatie tussen corticale verdunningen sociaal geheugen verder te verklaren. De inzet van proefdieren is noodzakelijk, omdat in de humane situatie het niet mogelijk is om a)individuen te onderzoeken met dezelfde gendeficiëntie (Pcdh9) in een gecontroleerde (genetische) omgeving en b)de relatie van dit gen met hersenmorfologie te onderzoeken. De relevantie van dit onderzoek blijkt uit het feit dat Pcdh9 eerder in meerdere studies is geassocieerd met autisme en dat andere Protocadherines zijn geïmpliceerd bij verschillende neuropsychiatrische stoornissen. Deze studie bouwt voort op eerdere bevindingen in de Pcdh9 knockout muis zoals in bovenstaand beschreven. Al met al hoopt deze studie belangrijke en specifieke mechanismen bloot te leggen achter sociale gedragsproblemen in psychiatrische ontwikkelingsstoornissen.

Titel studie: Zoeken naar koortconvulsiegevoeligheidsgenen
DEC nummer: 2012.I.03.047

Het identificeren van genen en mechanismen van koortsconvulsiegevoeligheid in muizen
Achtergrond: Kinderen tussen 6 maanden en 5 jaar kunnen tijdens koorts stuipjes krijgen (koortsstuipen). Dit kan erg beangstigend zijn voor de ouders. Als kinderen langdurige of herhaaldelijke koortsstuipen hebben meegemaakt, neemt de kans op het ontwikkelen van epilepsie toe. Omgevingsfactoren en genetische aanleg kunnen de kans op het ontwikkelen van koortsstuipen bepalen. Omdat er weinig bekend is over gevoeligheidsgenen voor koortsstuipen en de invloed van omgevingsfactoren, willen de onderzoekers hier meer onderzoek naar doen.
Doel/hypothese: Het identificeren van genen en mechanismen die de gevoeligheid voor koortsconvulsies bepalen, kan er toe leiden dat mensen die risico lopen, preventief medicatie krijgen, waardoor de ontwikkeling van epilepsie geremd wordt.
Globale aanpak vraagstelling: Bij muizenstammen met een verschillende genetische achtergrond worden koortsstuipen opgewekt door de lichaamstemperatuur langzaam te verhogen (door ze bloot te stellen aan warme lucht). Op dit moment

hebben de onderzoekers op deze manier een paar kandidaatgenen gevonden, die een rol spelen bij het ontwikkelen van koortsstuipen in muizen. De precieze rol van deze kandidaatgenen op het ontwikkelen van koortsstuipen willen ze in muizen testen door de aanwezigheid van deze genen te manipuleren en te kijken of deze muizen dan minder gevoelig zijn voor koortsstuipen. Verder willen ze het onderliggende mechanisme van koortsconvulsies beter in kaart brengen met interferentiestudies en door te kijken naar de elektrische eigenschappen van de hersencellen.

Vergadering 11 april 2012

Titel studie: Neurale substraten van sociaal spelgedrag
DEC nummer: 2012.I.04.049

Sociaal gedrag en de hersenen
Achtergrond: Er is een aantal gedragingen, die door mens en dier als prettig wordt ervaren en die belangrijk is voor het voortbestaan van individu, groep of soort. De bekendste van deze zogenoemde natuurlijke beloners zijn eten, drinken, seks en sociaal gedrag. In vergelijking met eten en seks is er maar weinig bekend over hoe sociaal gedrag in de hersenen tot stand komt. Dit is opmerkelijk, aangezien sociaal gedrag verstoord is bij een groot aantal psychiatrische stoornissen, zoals autisme, schizofrenie en depressie.
Doel/hypothese: Ophelderen via welke hersengebieden en signaalstoffen in de hersenen sociaal gedrag bij ratten tot stand komt.
Globale aanpak vraagstelling: Er zal onderzocht worden in hoeverre het beïnvloeden van signaaloverdracht in bepaalde hersengebieden sociaal gedrag bij ratten beïnvloedt. Hiertoe zal worden geprobeerd het sociale gedrag van ratten te beïnvloeden door de functie van bepaalde hersengebieden d.m.v. geneesmiddelen te veranderen. Gezien de complexiteit van de hersenen en van sociaal gedrag kan dit onderzoek alleen met intacte dieren gebeuren.

Titel studie: De rol van semaphorin 7A in celproliferatie en neurogenen
DEC nummer: 2012.I.04.050

De rol van Semaphorin7A in celdeling en geboorte van zenuwen in de volgroeide hersenen
Achtergrond: Tijdens de ontwikkeling van de hersenen zijn verscheidend stoffen van groot belang voor het aanleggen van zenuwcontacten binnen dit orgaan. Tot deze stoffen behoren onder andere gidseiwitten, die als taak hebben de zenuwuitlopers naar de juiste doelgebied elders in het brein te leiden. Deze eiwitten worden echter ook na de ontwikkeling geproduceerd door de hersenen. Dit is interessant, want in het volgroeide stadium is er maar weinig uitgroei van nieuwe zenuwuitlopers. Daarom leidt deze observatie tot de vraag waarom deze eiwitten nog steeds geproduceerd worden en wat de rol is van deze groep eiwitten in de volgroeide hersenen. Recent heeft een onderzoeksgroep in Italië ontdekt dat er een verhoogde celdeling en aanmaak van zenuwcellen is in dieren waarbij het gidseiwit Semaphorin 7A (Sema7A) niet meer aangemaakt wordt.
Doel/hypothese: Onderzocht wordt hoe het eiwit Sema7A celdeling en aanmaak van nieuwe zenuwen reguleert. Mogelijk is de aanwezigheid van Sema7A in of rondom de stamcellen belangrijk om de vernieuwing van stamcellen te remmen.
Globale aanpak vraagstelling: Allereerst wordt onderzocht waar het eiwit Sema7A en andere eiwitten die binden aan Sema7A worden aangemaakt. Tevens zal in levende muizen een validatie-experiment worden uitgevoerd om na te gaan of verlies van Sema7A leidt tot verhoogde celdeling en aanmaak van nieuwe zenuwcellen. Vervolgens zal in een celmodel uit muizen die geen Sema7A meer aanmaken worden gekeken naar de afhankelijkheid van Sema7A. Hiervoor zijn cellen nodig uit de muizenhersenen die niet met de huidige bestaande celmodellen te maken zijn. Hiervoor is dus het gebruik van proefdieren noodzakelijk. Met dit celmodel kan worden uitgezocht hoe Sema7A celdeling en aanmaak van nieuwe zenuwcellen reguleert.

Titel studie: Neurobiologie van sociale beloning en geheugen voor sociale beloning
DEC nummer: 2012.I.04.051

Neurobiologie van sociale beloning en geheugen voor sociale beloning
Achtergrond: Er is een aantal gedragingen die door mens en dier als prettig wordt ervaren en belangrijk is voor het voortbestaan van individu, groep of soort. De bekendste van deze zogenoemde natuurlijke beloners zijn eten, drinken, seksueel en sociaal gedrag. In vergelijking met eten en seks is er naar de neurobiologische grondslag van sociaal gedrag maar weinig onderzoek verricht. Dit is opvallend, aangezien sociaal gedrag in jonge dieren van groot belang is voor de sociale en cognitieve ontwikkeling en sociaal gedrag verstoord is bij bijna alle psychiatrische stoornissen. Opheldering van de hersengebieden en neurotransmitters die betrokken zijn bij sociaal gedrag is van belang voor het begrijpen van 1. hoe beloning in het algemeen, en 2. sociale beloning in het bijzonder tot stand komen en 3. hoe de hersenen sociale stimuli verwerken. Daarnaast kan kennis over sociaal gedrag bijdragen aan het ontwikkelen van een farmacotherapie voor psychiatrische stoornissen waarbij sociaal gedrag ernstig aangedaan is, zoals autisme, attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD), antisociale gedragsstoornissen, depressie en schizofrenie. Bij dit onderzoek zal onderzocht worden welke neurotransmittersystemen betrokken zijn bij de belonende eigenschappen van sociaal gedrag bij jonge ratten. Hierbij zullen de onderzoekers gebruik maken van een gedragsmodel waarbij de belonende eigenschappen van sociaal gedrag gemeten kan worden, geconditioneerde plaats preferentie. De onderzoekers zullen zich richten op een aantal neurotransmitter systemen, waarvan bekend is dat ze processen van beloning en geheugen beïnvloeden (te weten dopaminerge, noradrenerge, opioïde, glucocorticoïde en cannabinoïde neurotransmissie). Tevens zijn in de wetenschappelijk literatuur duidelijke aanwijzingen te vinden dat herinneringen aan een betekenisvolle gebeurtenis, die wordt opgeroepen doordat mens of dier geconfronteerd wordt met een daarmee geassocieerde prikkel (zoals hier gedaan wordt met plaatspreferentie: de omgevingsstimuli doen immers herinneren aan prettige ervaring van sociaal gedrag), farmacologisch beïnvloed kan worden op het moment dat de herinnering actief beleefd wordt. Dit proces, reconsolidatie genaamd, wordt gezien als een belangrijke manier waarop onze hersenen herinneringen kunnen aanpassen. Het beïnvloeden van reconsolidatieprocessen zou ook wel eens een belangrijke therapeutische strategie kunnen worden bij het behandelen van ziektes waarbij vervelende herinneringen een belangrijke rol spelen (zoals verslaving, maar ook posttraumatische stressstoornis en bepaalde fobieën).
Doel/hypothese: Ophelderen welke neurale systemen (hersengebieden, neurotransmitters) betrokken zijn bij sociale beloning en geheugen voor sociale beloning.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek wordt gebruik gemaakt van een gedragsmodel waarbij de belonende eigenschappen van sociaal gedrag gemeten kan worden, geconditioneerde plaatspreferentie. In dit model wordt een specifieke omgeving geassocieerd met een beloning (spel) en een andere specifieke omgeving met de afwezigheid van spel. Na een aantal herhalingen wordt de dieren de keuze gegeven in welke omgeving zij het liefst willen verblijven (de kant waar de dieren hebben gespeeld). Tijdens verschillende fasen van dit experiment kan d.m.v. het toedienen van bepaalde stoffen onderzocht worden welke signaalstoffen in de hersenen betrokken zijn bij sociale beloning en het geheugen voor sociale beloning. Proefdieren zijn hierbij nodig, omdat het uitvoeren van een sociale interactie en de verwerking van sociale interacties alleen in een levend organisme kan worden getest.

Titel studie: Characterization of the role of Nfatc2 gene in the modulation of motor behaviour in mice
DEC nummer: 2012.I.04.052

Karakterisatie van de rol van Nfatc2 gen in modulatie van bewegings- (of loopwiel-) activiteit in muizen
Achtergrond: Hyperactiviteit is een belangrijke eigenschap van eetstoornissen. De ontrafeling van de genetische bijdrage aan deze eigenschap kan bijdragen aan de verbetering van de behandeling van deze patiënten. Er zijn al bepaalde kan-

didaatgenen die mogelijk een belangrijke rol spelen in de ontwikkeling van eetstoornissen. Een voorbeeld is het Nfatc2 gen. Muizen zonder dit gen lopen significant minder in een loopwiel en dit beschermt de dieren tegen versneld lichaamsgewichtverlies in een diermodel voor anorexia. Mogelijk kunnen andere fenotypes veroorzaakt door het Nfatc2 gen ook bijdragen aan de verminderde loopwiel activiteit, bijvoorbeeld sensomotorische tekorten. Het is daarom belangrijk om mogelijke storende factoren te onderzoeken, voordat men met studies over de rol van Nfatc2 in de regulatie van bewegingsactiviteit in mensen kan beginnen. Om die reden zal genetisch gemodificeerde muizen met verwijderde Nfatc2 gen worden onderzocht voor de basale sensomotorische functies.
Doel/hypothese: Het project richt zich op het verder karakteriseren van de rol van het Nfatc2 gen in loopwiel activiteit. Nfatc2 is een kandidaat gen voor een van eetstoornissen eigenschapen, te weten hyperactiviteit. Voor de onderzoekers het onderzoek op biologische mechanismen van Nfatc2 actie kunnen doen, moeten ze de rol van dit gen beter in kaart brengen. Met deze kennis kunnen op termijn nieuwe mogelijkheden ontdekt worden ter voorkoming en genezing van eetstoornissen bij mens.
Globale aanpak vraagstelling: Om de rol van genen in gedrag te onderzoeken is proefdieronderzoek noodzakelijk. Genetische gemodificeerde muizen en de wild type controle dieren worden onderzocht op basale sensorische en motorische eigenschappen., zoals gripsterkte en motorcoördinatie.

Titel studie: Invloed van prebiotische vezels, glutamine of PUFAs op neuroimmunologische en gedrags- veranderingen in het koemelkallergie muizenmodel
DEC nummer: 2012.I.04.053

De invloed van immunomodulatoire voedingscomponenten op de neuro-immunologische en gedragsveranderingen in het koemelkallergie muizenmodel
Achtergrond: Autisme is een ontwikkelingsstoornis die wordt gekarakteriseerd door onder andere afwijkend sociaal gedrag. De oorzaak van deze ziekte is tot dusver grotendeels onbekend, hoewel veelal beweerd wordt het een gevolg is van een combinatie van genetische aanleg en omgevingsfactoren. Verstoorde immuunresponses zijn een vaak voorkomend fenomeen bij autistische patiënten en er wordt steeds vaker gesuggereerd dat afwijkingen in het immuunsysteem, met name in de darm, kunnen bijdragen aan de uiting van autistisch gedrag. Ongeveer 30% van de autistische populatie ondervindt darmproblemen, waaronder voedselallergie.
Doel/hypothese: In dit experiment willen de onderzoekers het effect van voedingscomponenten op de neuro-immunologische- en gedragsveranderingen in het koemelkallergie muizenmodel onderzoeken. In de toekomst kan deze kennis gebruikt worden voor het vinden van nieuwe aangrijpingspunten voor de behandeling van darmproblemen en eventueel gedragsafwijkingen bij autisme en andere gerelateerde psychiatrische aandoeningen.
Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek willen de onderzoekers een bestaand koemelkallergie muizenmodel gebruiken, waarin ze in een vorig experiment neuro-immunologische en gedragsveranderingen hebben gevonden, mogelijk gerelateerd autisme. In dit experiment willen ze onderzoeken wat de invloed is van voedingscomponenten op deze gevonden veranderingen. Indien er een effect geworden wordt van de diëten op de gevonden neuro-immunologische- en gedragsveranderingen, geeft dat inzicht in welke diëten mogelijk als behandeling kunnen dienen voor het verlichten van darmklachten en eventueel gedragsafwijkingen, zoals autisme, en wat het werkingsmechanisme is van deze voedingscomponenten.

Titel studie: Bepaling het effect van rapamycin en voedingsinterventie op koekmelkallergie-geassocieerde, verstoorde sociale interesse en CZS activatie in het koemelkallergie muizenmodel
DEC nummer: 2012.I.04.054

Bepaling van het effect van mTOR-remmer (rapamycin) en voedingsinterventie (vrije aminozuren) op neurologische, immunologische en gedragsveranderingen in het koemelkallergie muizenmodel
Achtergrond: Autisme is een stoornis die wordt gekarakteriseerd door afwijkend sociaal gedrag, verstoorde communicatie en de aanwezigheid van specifieke en herhaalde stereotype gedragingen. Hoe de ziekte ontstaat is grotendeels onbekend, hoewel veelal wordt beweerd dat autisme een gevolg is van een combinatie van genetische aanleg en omgevingsfactoren. Een van de omgevingsfactoren zou een overgevoeligheidsreactie op koemelkeiwitten kunnen zijn. Uit vorige onderzoeken is gebleken dat de behandeling met rapamycin afgenomen sociaal gedrag in genetisch-afwijkende muizen kan verbeteren en bepaalde aminozuren betrokken zijn bij activatie van energie sensor (mTOR). Daarom veronderstellen de onderzoekers dat mTOR-remmer (rapamycin) en voedingsinterventie (vrije aminozuren) het sociale gedrag van koemelkallergische muizen ook positief kan beïnvloeden.
Doel/hypothese: Bepaling van het effect van rapamycin en voedingsinterventie op neurologische, immunologische en gedragsveranderingen die mogelijk gerelateerd zijn aan afgenomen sociale interesse in het koemelkallergie muizenmodel. De onderzoekers willen hiermee onderzoeken of rapamycin en voedingsinterventie (vrij aminozuur of combinaties) verstoord sociaal gedrag in koemelkallergische muizen kunnen verbeteren.
Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek willen de onderzoekers een bestaand koemelkeiwit allergie muizenmodel gebruiken. Ze willen onderzoeken of deze muizen afwijkingen vertonen in neuro-immunologische mechanismen, welke mogelijk ook verstoord zijn bij patiënten met autisme. Ze willen het effect van rapamycin en voedingsinterventie in het koemelkallergische muizenmodel onderzoeken. In dit vervolgexperiment willen ze naast de sociale interesse test, ook sociale discriminatie test en de poetstest doen. Verder zal in serum, brein, darm en milt worden onderzocht of er veranderingen zijn in de aanwezigheid van specifieke neuro- en immunologische markers en of deze veranderingen beïnvloed kunnen worden door de behandeling met mTOR remmer of voedingsinterventie.

Titel studie: The role of dopamine in feeding and behaviour
DEC nummer: 2012.II.04.055

Ontrafelen van de rol van dopamine en noradraline bij psychiatrische aandoeningen en eetstoornissen
Achtergrond: Veel psychofarmaca werken op het dopamine en noradrenaline systeem. Toch is niet bekend wat de precieze rol is van dopamine en noradrenaline bij gestoord gedrag, maar ook niet bij bijvoorbeeld eetgedrag. Voor dit onderzoek worden genetisch gemodificeerde ratten gebruikt waarin de veranderingen die men vermoedt dat ze plaatsvinden bij bijvoorbeeld ADHD, psychose of obesitas kunnen worden nagebootst.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is de rol van dopamine en noradrenaline bij (eet)gedrag en de werking van psychofarmaca beter te begrijpen.
Globale aanpak vraagstelling: Met dit diermodel zijn de onderzoekers in staat een verhoogde of verminderde activiteit van het dopaminerg systeem na te bootsen, waarvan men veronderstelt dat die zich ook afspeelt bij psychiatrische patienten en wellicht ook bij mensen met obesitas. De dieren zullen een injectie krijgen met een niet pathogeen gerecombineerd virus (AAV) dat er voor zorgt dat dopaminerge of noradrenerge neuronen wat betreft hun activiteit onder controle komen te staan van een farmacon dat dan alleen die neuronen kan activeren. Vanaf 3 weken na deze injectie worden dieren in een verrijkte thuiskooi gevolgd zonder en met stimulatie. Het effect op (eet)gedrag zal worden bestudeerd. Daarnaast zullen de dieren met en zonder stimulatie worden onderzocht op anhedonie (door te kijken naar hun motivatie om te werken voor een kleine voedselbeloning) en angst (via de elevated plus maze test).

Titel studie: Pattern and basis of functional MRI signals after stroke and cortical stimulation
DEC nummer: 2012.I.04.056

Patroon en basis van functionele MRI signalen na een herseninfarct tijdens corticale stimulatie
Achtergrond: Een herseninfarct is één van de voornaamste oorzaken van mortaliteit, morbiditeit en invaliditeit in de moderne samenleving. Na een infarct treedt soms een verlamming op, die vaak naar verloop van tijd weer een beetje herstelt. Dit komt omdat bepaalde gebieden in de hersenen de functies overnemen die voorheen door gebieden in de geïnfarcteerde gebieden werden aangestuurd. Dit kunnen nabijgelegen gebieden zijn of gebieden op een andere plek in de hersenen. Hoe dit precies werkt is niet goed in kaart gebracht. In de laatste jaren heeft functionele MRI zich bewezen als een krachtige veelzijdige techniek om hersenactiviteit te meten. Echter, de basis van fMRI signalen is nog grotendeels onopgehelderd. Toch kan fMRI meer inzicht geven in hoe de hersenen herstellen na een infarct.
Doel/hypothese: Met deze studie wordt onderzocht welke veranderingen er op fMRI scans optreden na het doormaken van een herseninfarct. Dit zullen de onderzoekers in verband brengen met scans van het infarct en met tests voor functie (controle op verlamming). Ook zal worden gekeken naar de gezonde hersenhelft.
Globale aanpak vraagstelling: Bij ratten wordt een beroerte opgewekt. Daardoor zullen ze een verlamming krijgen en gewicht verliezen. Daarna zullen de dieren enkele malen gewogen worden en wat eenvoudige testen ondergaan (gepaard gaand met weinig ongerief) om de verlamming te testen. Uiteindelijk zal de rat, op verschillende tijdstippen na een beroerte, onder narcose gebracht worden en worden gescand. Daarbij wordt ook de voorpoot gestimuleerd om te kijken hoe de hersenen op deze stimulatie reageren. Verder worden ook elektrodes op de hersenen geplaatst, zodat tijdens het scannen de hersenen direct gestimuleerd kunnen worden. Bij deze stap wordt de rat gedood en worden de hersenen voorbereid om onder de microscoop te bekijken. Aangezien de rat onder narcose blijft, geeft dit alleen het ongerief van onder narcose brengen. Zo kan de reorganisatie van nieuwe functionele netwerken na een beroerte aan de intacte rat van een bepaalde leeftijd beter begrepen
worden.

Titel studie: Kan een subarachnoïdale bloeding leiden tot depressief gedrag en kunnen mesenchymale stamcellen dit voorkomen?
DEC nummer: 2012.I.04.057

Kan een subarachnoidale bloeding lijden tot depressief gedrag en kunnen mesenchymale stamcellen dit depressieve gedrag voorkomen?
Achtergrond: Hersenbloedingen (Subarachnoïdale bloedingen (SAB)) komen bij relatief jonge patiënten voor en zijn een belangrijke oorzaak van sterfte en handicap. Ook kunnen patiënten met deze aandoening later aan een depressie gaan lijden. De hersenbloeding heeft niet alleen direct na de bloeding hersenschade tot gevolg, er ontstaat vaak meer en nieuwe schade in de weken na de bloeding. Men denkt dat ontstekingsactiviteit en het aanmaken van factoren die geprogrammeerde celdood veroorzaken bijdragen aan die latere schade. Op dit moment zijn er geen effectieve behandelingsmogelijkheden.
Doel/hypothese: De onderzoekers hebben in een vorig onderzoek gezien dat de ratten na een SAB waarschijnlijk depressief gedrag vertonen. Om dit zeker te weten moeten de dieren ook met antidepressiva behandeld worden. Verder hebben de onderzoekers eerder mesenchymale stamcellen getest bij pasgeboren dieren met hersenschade door zuurstofgebrek. Deze bleken hierbij een herstellend effect te hebben. In deze studie willen de onderzoekers deze zelfde mesenchymale stamcellen gebruiken om na te gaan of mesenchymale stamcellen ook beschermend werken na een hersenbloeding in volwassen dieren en daarmee ook de depressie kunnen voorkomen.

Globale aanpak vraagstelling: Bij ratten veroorzaken de onderzoekers een hersenbloeding. Vervolgens behandelen ze de ratten met mesenchymale stamcellen en behandelen ze de dieren 3 weken met antidepressiva. Vervolgens meten ze het effect van de behandeling op het depressie gedrag van de dieren en op de hersenschade.

Titel onderwijsonderdeel: Interne trainingen MRI en experimentele diermodellen voor hersenaandoeningen
DEC nummer: 2012.I.04.058

Interne training MRI en experimentele diermodellen voor hersenaandoeningen
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Beroerte is de belangrijkste oorzaak van invaliditeit in onze samenleving, en na hartinfarcten de belangrijkste doodsoorzaak. Door gebruik van diermodellen wordt gezocht naar nieuwe behandelmethodes en gespecialiseerde diagnostiek (door middel van MRI), die eenvoudig vertaalbaar zijn naar de kliniek. Via dit protocol worden betrokken onderzoekers en biotechnici opgeleid om de gebruikte diermodellen en in vivo MRI protocollen uit te voeren. Daarnaast worden ondersteunende technieken aangeleerd. Na deze training kunnen betrokken onderzoekers en biotechnici participeren in de onderzoekslijnen binnen deze afdeling.
Globale aanpak van het onderwijselement: Wanneer nieuwe medewerkers of studenten (die vanuit de studie verplicht zijn om een complexe handeling te leren) in dienst komen op de afdeling, worden deze getraind in het uitvoeren van de handeling die voor hun van toepassing is. Er zal een trainingsdagboek bij gehouden worden om de leercurve bij te houden. Hierbij zal de proefdierdeskundige worden betrokken. Tevens is er de mogelijkheid om voor vaste medewerkers nieuwe technieken te leren en bestaande technieken vaardig te blijven.

Titel studie: Transportprocessen in zenuwcellen
DEC nummer: 2012.I.04.059

Transport processen in zenuwcellen
Achtergrond: Zenuwcellen zijn cellen met een uitzonderlijke morfologie en functie. Functionele eiwitten moeten snel lange afstanden kunnen overbruggen naar hun specifieke locatie om effectief signalen over te dragen aan andere zenuwcellen. Zo wordt het goed werken van het brein gewaarborgd. Hiervoor is gespecialiseerd transport in de zenuwcellen essentieel en dit kost veel energie. Bij verstoring van dit transportproces kunnen verschillende klinische kenmerken ontstaan zoals geestelijke achterstand, (synaptische eiwitten komen niet -op tijd- naar de synapsen) maar ook neurodegeneratieve aandoeningen als Alzheimer, Huntington en Multiple Sclerose als gevolg van eiwitstapelingen in de zenuwcellen.
Doel/hypothese: De onderzoekers willen duidelijkheid krijgen over: de functie van de verschillende motoreiwitten en hun helpereiwitten op transport in zenuwcellen; de oorzaak van en het effect op eiwitopstapeling en het effect daarvan op de zenuwcelmorfologie; het belang van het begin van het axon in selectie van transport naar dendrieten en axonen; de rol van motoreiwit Kif1b in Multiple Sclerose.
Globale aanpak vraagstelling: Alle experiment zijn hetzelfde: alle manipulaties worden gedaan na decapitatie en het op kweek zetten van de zenuwcellen of hersenplakjes van ratten en muizen. De onderzoekers doen vervolgens alle experimenten in de geweekte cultuur en hersenplakjes 1-4 weken na de decapitatie (langer leven de cellen niet). De zenuwcellen en hersenplakjes worden getransfecteerd met verschillende DNA constructen (GFP-fusie eiwitten, RNA interferentie plasmides, virale vectoren etc.) om de functie van verschillende eiwitten, en hun interacties, te bestuderen en zo een beter begrip te krijgen van neuronaal functioneren. Zenuwcellen zijn maar beperkt (4 weken) in kweek houdbaar en kunnen nog niet op een andere manier verkregen worden: geïnduceerde zenuwcellen of neuronale (tumor)cellijnen hebben niet de juiste morfologie en/of vorming van synapsen zoals gevonden in primaire zenuwcellen.

Titel studie: Pilot voor het combineren van in vivo elektrofysiologie en optogenetica
DEC nummer: 2012.I.04.060

Valideren van het gebruik van optogenetica tijdens het meten van hersenactiviteit tijdens eetgedrag
Achtergrond: De hersenen spelen een grote rol in eetgedrag en afwijkingen in dit gedrag bij bijv. obesitas en anorexia gaan gepaard met afwijkingen in de hersenen. Om de relatie tussen de functie van de hersenen en het eetgedrag te bestuderen, willen de onderzoekers in deze experimenten gebruik maken van een nieuwe techniek, optogenetica, tijdens het meten van hersenactiviteit in een gedragstaak.
Doel/hypothese: Het doel van dit experiment is om lichtgevoelige hersencellen te meten tijdens een gedragstaak.
Globale aanpak vraagstelling: Ratten zullen op een taak getraind worden waarbij zij voedselbeloningen kunnen verdienen. Vervolgens zullen de dieren geopereerd en behandeld worden waardoor het mogelijk wordt om hersenactiviteit tijdens deze taak te meten. Ook is het nu mogelijk om lichtgevoelige hersencellen te activeren, om zo te kijken of dit ook tot veranderingen in het gedrag zal leiden.

Vergadering 9 mei 2012

Titel studie: Instructie injecteren en opereren
DEC nummer: 2012.I.05.062

Instructie injecteren en opereren van proefdieren
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Voor gedragsstudies moet het injecteren van de dieren zo
stres loos mogelijk gebeuren. Daarom moeten mensen die meewerken binnen een experiment voldoende oefening hebben gehad voordat zij aan een experiment beginnen.
Globale aanpak van het onderwijselement: Onder begeleiding van een ervaren medewerker, zal een techniek worden aangeleerd. Hierbij wordt gekeken of de trainee duidelijke vorderingen maakt. Als de techniek voldoende wordt beheerst kan de training worden afgesloten. De trainer kijkt naar: snelheid, rust en accuraatheid in de handelingen.

Titel studie: Neurale mechanisme van verlies van eetlust
DEC nummer: 2012.I.05.063

Neurale mechanisme van verlies van eetlust
Achtergrond: Anorexia Nervosa patiënten hebben een verlies aan eetlust. Het tonen van plaatjes van voedsel, terwijl gekeken wordt naar hersenactiviteit door middel van MRI, leidt bij hen tot activatie van gebieden in de hersenen die te maken hebben met onderdrukking van gedrag. Controle personen activeren beloningsgebieden bij het zien van lekker voedsel. Wat precies het mechanisme is dat onderliggend is aan deze afwijkende respons bij anorexia is onbekend. Omgevingsfactoren als het slankheidsideaal dragen waarschijnlijk bij aan het verkeerd verwerken van stimuli die te maken hebben met eten. Conditioned taste aversion is het fenomeen dat als dieren eenmaal iets gegeten hebben waarvan ze ziek worden, ze dit eten zullen vermijden. Het neurale circuit dat een rol speelt bij dit evolutionair geconserveerde systeem is grotendeels bekend. Als een dier in aanraking komt met een dier dat ziek is van een bepaald voedselitem, zal via de reuk de aversie voor dat voedselitem worden overgedragen, zodat ook dat dier dat eten vermijdt. Dit laatste staat bekend als socially mediated conditioned taste aversion. Ontrafelen van het neurale circuit van socially mediated conditioned taste aversion is een voorwaarde om te kunnen onderzoeken of dit circuit in ratten vergelijkbaar is aan het circuit dat geactiveerd wordt bij anorexia patiënten bij het zien van calorierijk voedsel. Meer inzicht in dit circuit vormt de basis voor het ontwikkelen van nieuwe therapieen zoals farmacotherapie maar ook gedragstherapie.
Doel/hypothese: Hypothese: bij anorexia nervosa wordt bij het zien van plaatjes van hoog calorisch voedsel (zoals vet) het neurale circuit van socially mediated conditioned taste aversion geactiveerd. Doel hier is dit circuit in ratten te ontrafelen.
Globale aanpak vraagstelling: Ratten worden sociaal gehuisvest gedurende het hele experiment. Tijdens de trainings- en testdagen wordt de demonstrator rat een half uur apart in een kooi gezet en krijgt deze iets lekkers te drinken. Daarna wordt de rat op trainingsdagen met saline en op testdag met
LithiumChloride geïnjecteerd (waardoor deze ziek zal worden). Voor 30 minuten mogen de kooigenoten (observatie ratten) observeren wat de demonstratie rat gedronken heeft. Dan worden de observatie ratten voor 4 uur allen apart in een kooi gezet waarin ze keuze hebben om gewoon water te drinken of een andere lekkere vloeistof. Rat 1 krijgt hetzelfde als de demonstrator, rat 2 krijgt een onbekend dieet, rat 3 krijgt een bekend dieet. Hiermee kan worden gecontroleerd op stresseffecten na het zien van een zieke rat en hoe een rat reageert als hij een heel nieuw dieet heeft na een stressvolle ervaring. Daarna worden alle ratten weer bij elkaar gezet. Aan het eind van het experiment worden de dieren geeuthana-

seerd en worden er kleuringen op de hersenen gedaan om te zien welke gebieden bij de ratten geactiveerd worden. Aan de hand daarvan kunnen de onderzoekers zien of de geactiveerde hersengebieden overeenkomen met Anorexia Nervosa patiënten. Omdat dit gaat om het ontrafelen van neurale circuits en gedrag is dit alleen mogelijk in proefdieren.

Titel studie: Het effect van de 5-HT1A/1B receptor agonist eltoprazine op monoamine afgifte in de nucleus accumbens en orbitofrontale cortex van ratten
DEC nummer: 2012.I.05.064

Het effect van het medicijn eltoprazine op hersengebieden die belangrijk zijn bij beloning en impulsiviteit
Achtergrond: Bekend is dat het medicijn eltoprazine een anti-impulsieve werking heeft in ratten en in mensen. Ook is bekend wat eltoprazine doet op neurotransmissie (signaaloverdracht) in een hersenengebied (mPFC) dat betrokken is bij een bepaald aspect van impulsiviteit. Impulsiviteit bestaat echter uit verschillende componenten: het niet kunnen wachten op beloning en het niet kunnen inhouden van een reactie.
Doel/hypothese: Om beter te kunnen begrijpen wat de rol is van de neurotransmissie in de verschillende types van impulsiviteit (en vooral de impulsiviteit die belangrijk is bij gevoeligheid voor beloning) is het belangrijk dat er ook in andere hersengebieden die belangrijk zijn bij impulsiviteit en beloning wordt gekeken naar het effect van eltoprazine.
Globale aanpak vraagstelling: Om signaalstoffen in de hersenen te meten worden de ratten gedurende een dag aangesloten op een meetsysteem waarmee de onderzoekers signaalstoffen en de afbraakproducten van deze signaalstoffen in de hersenen kunnen meten. Tijdens de metingen worden de dieren blootgesteld aan eltoprazine om te kijken wat het effect is van deze stof op de neurotransmissie in de hersengebieden die belangrijk zijn bij beloning en impulsiviteit.

Titel studie: Effects of Biperiden on spatial learning and memory in rats
DEC nummer: 2012.I.05.065

Effecten van Biperiden op ruimtelijk leren en geheugen van de rat
Achtergrond: Effecten van leer- en geheugenverbeterende stoffen worden in dieren getest die door middel van farmaca, bv. scopolamine, experimenteel opgeroepen geheugenproblemen hebben. Helaas heeft scopolamine naast verstorende effecten op de geheugenprestatie andere vervelende bijwerkingen.
Doel/hypothese: Recent werd geopperd dat Biperiden beter geschikt is om deze deficieten in knaagdieren te induceren. De onderzoekers verwachten dat een Biperiden dosis die niet of nauwelijks bijwerkingen heeft, het leergedrag van ratten in de conefield (veld met kegels) kan vertragen en reeds aangeleerd gedrag kan verstoren.
Globale aanpak vraagstelling: In een experiment 1 wordt de dosis van Biperiden gezocht die het leren van de ruimtelijke geheugentaak vertraagt. In experiment 2 worden de controledieren uit het eerste experiment ingezet. Deze dieren hebben de ruimtelijke geheugentaak geleerd. Onderzocht wordt, of dit aangeleerde gedrag met behulp van Biperiden tijdelijk kan worden verstoord.

Titel studie: Effect van humane MSC op de motoriek en laesievolume na hypoxisch-ischemisch hersenschade in de neonatale muis
DEC nummer: 2012.I.05.066

Effectiviteit van humane stamcellen om hersenschade na gebrek van bloed toevoer en zuurstof te herstellen in de muis
Achtergrond: Hersenschade door gebrek aan zuurstof en bloedtoevoer is een van de meest voorkomende oorzaken van sterfte of blijvende neurologische aandoeningen bij vroeggeboren baby's. De incidentie is 3-9 per 1000 levend geboren baby's. De mechanismen betrokken bij dit soort hersenschade zijn slechts gedeeltelijk bekend en de therapeutische mogelijkheden zijn erg beperkt. In een eerdere studie hebben onderzoekers stamcellen via de neus toegediend na geïndu-

ceerde hersenschade. Uit deze studie bleek dat de muizen na de behandeling met stamcellen verbeterde motorfunctie hadden. Ook was er een afname van het schadegebied na de behandeling in de hersenen.
Doel/hypothese: Bepalen of humane stamcellen het muizen brein kunnen herstellen na hersenschade als gevolg van een tekort aan zuurstof en bloedtoevoer .
Globale aanpak vraagstelling: Intranasale stamceltoediening blijkt door eerdere studies de motoriek te verbeteren en het schadegebied te verminderen. Studies laten zien dat dit een veelbelovende therapeutische mogelijkheid is. Echter, voordat het naar de kliniek kan worden vertaald, moeten de onderzoekers bepalen of humane stamcellen het brein kunnen herstellen. Dit gaan ze doen door de muizen met humane stamcellen te behandelen na het nabootsen van de hersenschade. De motoriek van de muis en de grootte van het schadegebied worden bestudeerd na de behandeling.

Titel studie: Perifere macrofagen als behandelingsmethode voor chronische hyperalgesie
DEC nummer: 2012.I.05.067

Perifere macrofagen als mogelijke behandelingsmethode van chronische pijn
Achtergrond: Chronische pijn die blijft bestaan nadat mensen hersteld zijn van een ontsteking is een belangrijk klinisch probleem. De onderzoekers hebben een model ontwikkeld waarin muizen langdurig gevoelig blijven voor warmte prikkels nadat de ontsteking verdwenen is. In deze studie willen ze onderzoeken of het toedienen van zogenoemde perifere macrofagen, een specifiek soort afweercel, helpt om al aanwezige overgevoeligheid voor warmteprikkels te genezen.
Doel/hypothese: Nagaan of het toedienen van deze perifere macrofagen al aanwezige chronische pijnovergevoeligheid kan remmen.
Opzet van onderzoek: De onderzoekers maken gebruik van een muismodel, waarin microglia (immuuncellen die in het centrale zenuwstelsel zitten) een eiwit (GRK2) minder tot expressie brengen en dat er voor zorgt dat deze muizen langdurige pijn overgevoeligheid ontwikkelen na een ontstekingsprikkel in de poot. Daarnaast is er een ander muizenmodel dat veel gebruikt wordt als model voor langdurige overgevoeligheid voor warmteprikkels. In dit model wordt een sterke ontstekingsprikkel gegeven in de poot, waarna muizen langdurige overgevoeligheid voor pijn ontwikkelen.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie wordt onderzocht of het geven een bepaald type cel al aanwezige chronische pijnovergevoeligheid kan remmen in deze twee modellen. Gevoeligheid voor hitte is geregeld op verschillende niveaus: daar waar de hittestimulatie wordt toegepast en de ontsteking (in de poot), op het niveau van het ruggenmerg (waar speciale pijncellen geactiveerd worden) en op het niveau van de hersenen die de informatie verwerken. De werking van een nieuwe pijnremmer op cellen is daarom geen garantie dat het ook in dieren werkt..

Titel studie: The role of Fam173b in chronic pain
DEC nummer: 2012.I.05.068

Rol van een nieuw eiwit in de ontwikkeling van chronische pijn
Achtergrond: Een belangrijk deel van de patiënten met een ontsteking blijft pijn houden nadat de ontsteking genezen is. Deze vorm van chronische pijn is moeilijk te behandelen, vooral omdat niet bekend is welke mechanismen er aan ten grondslag liggen.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is na te gaan wat de bijdrage van het nieuw molecuul is aan blijvende pijn na ontsteking. De onderzoekers verwachten dat een verlaging van het eiwit in pijnzenuwen chronische pijn kan voorkomen, terwijl verhoging van hetzelfde eiwit chronische pijn erger maakt.
Globale aanpak vraagstelling: Veranderingen in pijngevoeligheid is het resultaat van complexe veranderingen op de plek waar de ontsteking is en daar waar de pijnprikkel worden gedetecteerd en waar ze verder worden verwerkt. De rol van specifieke eiwitten in pijnmodulatie kan daarom enkel en alleen in intacte proefdieren worden gedaan. Muizen zullen een ontstekingsprikkel in de poot krijgen die zorgt voor overgevoeligheid voor aanraking en/of warmte prikkels. Dit is een

veelgebruikt modelsysteem om de mechanismen van chronische pijn te onderzoeken. In deze studie gaan de onderzoekers na of experimenteel aangebrachte verandering in de hoeveelheid van het eiwit invloed heeft op deze overgevoeligheid.

Titel studie: Karakterisatie van het glutamaatsysteem van de DBA-muis
DEC nummer: 2012.I.05.069

Karakterisatie van het glutamaatsysteem van de DBA-muis
Achtergrond: Uit de literatuur blijkt dat de boodschapperstof glutamaat een rol speelt bij psychotische symptomen. Een eerste aanwijzing hiervoor was dat blokkeren van een bepaald type glutamaatreceptor in mensen en dieren psychoseachtige verschijnselen kan induceren. In (pre-)klinisch onderzoek wordt het glutamaatsysteem op verschillende manieren getarget. Echter, afdoende mechanistische verklaringen zijn nog niet voor handen en van interacties met andere neurotransmitters is nog weinig bekend. Het primaire doel van de huidige studie is karakteriseren van het glutamaatsysteem in het DBA/2J model, een muizenstam met verstoorde informatieverwerking - die geassocieerd wordt met psychose.
Doel/hypothese: Vaststellen hoe en in welke mate de verstoorde informatieverwerking in de DBA-muis samenhangt met een veranderd glutamaatsysteem.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen krijgen stoffen toegediend die aangrijpen in de hersenen. Vervolgens meten de onderzoekers wat er gebeurt met de informatieverwerking van deze muizen. Een maat voor informatieverwerking wordt verkregen met de zogenoemde prepulse inhibitietest, een test die gebaseerd is op schrikreacties die worden uitgelokt door het horen van geluiden van afwisselende sterkte. Hoe groter de schrikreactie, hoe slechter de informatieverwerking. Elke muis ondergaat deze test (duur: 25 min) in totaal 5 maal, met tussenpozen van minimaal 1 week tijd, om de dieren niet teveel te belasten en de respons zo weinig mogelijk te beïnvloeden.

Titel studie: Leptin and downstream signaling cascades implicated in dieting
DEC nummer: 2012.I.05.071

Invloed van leptine in overgewicht en het dieet
Achtergrond: Obesitas is een groeiend wereldwijd probleem. Mensen die verschillende soorten diëten ondergaan om de zwaarlijvigheid tegen te gaan, zijn vaak niet succesvol. Dit is misschien te wijten aan een groot aantal fysiologische veranderingen die in het lichaam ontstaat als reactie op dieet en een verminderde calorie-inname. Dit is de focus van deze studie. Vetweefsel scheidt het signaalmolecuul leptine af, die door de hersenen wordt gesignaleerd en zorgt voor een verminderde voedselinname en verhoogde energie-uitgave. In de afgelopen jaren is er een model ontwikkeld voor dieet geïnduceerde obesitas. Wistar ratten zijn blootgesteld aan een dieet van vetrijk voedsel en hoge suiker oplossing naast gewoon voer en water. Blootstelling aan dit dieet leidt tot een calorie-overconsumptie, verhoogde vetgehalte en leptine niveaus. Hiermee kunnen de onderzoekers alle essentiële kenmerken nabootsen van menselijke obesitas. In voorgaand experiment hebben we dieren voor vier weken blootgestelde aan dit dieet gevolgd door 4 weken normaal eten. Deze dieren waren ook geïmplanteerd met een transmitter die de lichaamstemperatuur en bewegingsactiviteit continu meet. Interessant is dat na het weghalen van het dieet de dieren hun calorie-verbruik verlaagde samen met een daling van de kerntemperatuur van het lichaam, maar niet bewegingsactiviteit. Aan het einde van vier weken hadden deze dieren meer vet dan controle dieren, hogere circulerende leptine niveaus en ongevoeligheid voor perifere leptine injecties. Uit de literatuur blijkt dat de daling van de lichaamstemperatuur waargenomen bij calorische restrictie is te wijten aan verminderde zenuwstelsel activiteit. Hieruit kunnen we veronderstellen dat de afname in vetpercentage (en dus lagere leptine niveaus) in dieren na verwijderen van het vet-suikerrijk dieet leidt tot een relatief tekort aan leptine. Dus door dieren leptine te geven in een periode waarin het dieet is verwijderd zal hen in staat stellen om meer vetweefsel te verliezen.
Doel/hypothese: Onze hypothese is dat tijdens diëten (in dit geval verwijderen van vet-suikerrijk dieet), dieren hun lep-

tine levels verminderen, dus een vermindering in hersenactiviteit naar het bruin en wit vetweefsel hebben en daardoor vermindering in energie verbruik. Daarom zal de behandeling van dieren met leptine in de eerste fase van het weghalen van dieet leiden tot een afname van hun zenuwactiviteit dus leiden tot meer energieverbruik.
Globale aanpak vraagstelling: In het eerste experiment willen de onderzoekers kijken naar veranderingen in neurale populaties van het brein onder invloed van hoog calorisch dieet. Hiervoor gaan ratten op verschillende dieetschema's, waarna ze geëuthanaseerd worden en het brein voor analyse wordt gebruikt. In het tweede experiment willen de onderzoekers kijken naar de cardiovasculaire effecten en de invloed van het zenuwstelsel. Hiervoor krijgen de ratten een transmitter geïmplanteerd in de buikholte waarmee ze onder andere bloeddruk (systole, diastole), lichaamstemperatuur, activiteit en ECG kunnen meten. Deze ratten gaan ook op verschillende dieet schema's, waarna ze geëuthanaseerd worden en het brein voor analyse wordt gebruikt. In het derde experiment krijgen de ratten een transmitter (temperatuur en activiteit) in de buikholte geplaatst en een pompje onderhuids geplaats die continu leptine of saline afgeeft. Daarna gaan de dieren op de verschillende dieet schema's, waardoor de onderzoekers het effect van chronische leptine kunnen meten.

Titel studie: Prepulse inhibitie en CRF: interacties met glutamaat en GABA
DEC nummer: 2012.I.05.072

Verstoorde filtering van informatie in de hersenen, interacties van de boodschapperstoffen CRF, glutamaat en GABA
Achtergrond: Langdurige stress verhoogt concentraties van de boodschapperstof CRF in de hersenen. Dit heeft een negatieve invloed op de filtering van informatie uit de omgeving; hetgeen ook verstoord is bij psychose. In dit project wordt het onderliggende mechanisme onderzocht. De onderzoekers kijken hiervoor naar de effecten van speciaal geselecteerde farmaca op informatieverwerking van muizen die chronisch verhoogde niveaus van CRF in hun hersenen hebben.
Doel/hypothese: Meer inzicht krijgen in de mechanismen via welke CRF de informatieverwerking van de hersenen verstoort.
Globale aanpak vraagstelling: De onderzoekers maken gebruik van muizen die overmatig veel CRF in het brein hebben. Gemeten wordt welke farmaca de slechte informatieverwerking in deze muizen verbeteren. Hiervoor meten ze de reactie van de muizen op verschillende geluiden. Met andere technieken wordt gemeten waar in de hersenen de werking van de boodschapperstoffen veranderd is.

Vergadering 30 mei 2012

Titel studie: Functionele analyse van ALS- eiwitten middels in utero electroporatie en primaire celkweek om in vivo interactoren te detecteren en functie te analyseren
DEC nummer: 2012.I.05.073

De normale en verstoorde functie van eiwitten die Amyotrofe Laterale Sclerose kunnen veroorzaken
Achtergrond: Amyotrofe Laterale Sclerose is een ernstige ziekte die over het hele leven voorkomt bij ongeveer 1 op de 500 mensen. Patiënten krijgen klachten van zwakte in de armen en benen en moeite met slikken en spreken. Na het ontstaan van de klachten leven patiënten gemiddeld nog 3 jaar; uiteindelijk overlijden ze door zwakte van de ademhalingsspieren. De onderzoekers weten dat bepaalde veranderingen in het DNA leiden tot veranderingen in bepaalde eiwitten en dat dit uiteindelijk leidt tot het afsterven van zenuwcellen. Wat er precies misgaat in de zenuwcel van een ALS patiënt is echter onbekend. Inzicht in het ziekteproces is essentieel om een therapie voor de ziekte te vinden.
Doel/hypothese: Begrijpen wat de functie is van de eiwitten die ALS veroorzaken in zenuwcellen en wat er mis gaat met de veranderde ALS eiwitten waardoor zenuwcellen afsterven.
Globale aanpak vraagstelling: Om te ontdekken wat de functie is van de 5 ALS-eiwitten die de onderzoekers hebben uitgekozen, wordt bekeken met welke andere eiwitten deze eiwitten een verbinding aangaan. Dit geeft informatie over de processen in de cel waar deze eiwitten bij betrokken zijn en mogelijke aanknopingspunten voor een nieuw medicijn tegen ALS.
ALS is een ziekte van zenuwcellen. Normaal delen zenuwcellen zich niet en daarom kun je ze ook niet langdurig kweken. Daarom zijn voor deze studie dieren nodig om onderzoek aan zenuwcellen te kunnen doen. Verder is het belangrijk dat er zenuwcellen worden gebruikt die zoveel mogelijk in een 'normale' omgeving zitten van andere zenuwcellen en ondersteunde cellen. Daarom zijn de hersencellen van een levende muis het beste model om te onderzoeken welke eiwitten een verbinding aangaan met ALS eiwitten.

Titel studie: Research into sexual side effects of Viibryd (vilazodone), a compound with SSRI and 5HT1A receptor partial agonistic activity
DEC nummer: 2012.I.05.074

Een studie in ratten naar de mogelijke seksuele bijwerkingen van het nieuwe antidepressivum Vilazodone
Achtergrond: Vilazodone is een nieuw antidepressivum dat al in de VS op de markt is. Vilazodone heeft een tweeledige werking: 1) het blokkeert de heropname van de neurotransmitter serotonine (dit zorgt voor de antidepressieve werking, maar ook voor de seksuele bijwerkingen) en 2) het stimuleert de 5HT1A receptor. Stimulatie van deze receptor is mogelijk prosexueel. De hoop is nu dat de anti- en proseksuele werkingen van vilazodone elkaar in evenwicht zullen houden.
Doel/hypothese: (1) Vaststellen of vilazodone seksuele bijwerkingen heeft (in vergelijk met andere antidepressiva), (2) Onderzoeken hoe belangrijk de 5HT1A stimulerende effecten van vilazodone zijn.
Globale aanpak vraagstelling: De studie wordt verdeeld in 2 fasen. Fase 1: Effecten van verschillende doseringen vilazodone (chronische toediening) op het seksuele gedrag van ratten zal worden onderzocht. Er zal een vergelijk gemaakt worden met "oudere" antidepressiva (paroxetine en citalopram). Fase 2. Effecten van vilazodone zullen worden vergeleken met de effecten van een combinatie van citalopram en buspirone. Buspirone is een stof die de 5HT1A receptor stimuleert. Seksueel gedrag kan niet in geïsoleerde cellen in kweek worden onderzocht.

Titel studie: Neurophysiology of syntax perception (IEF 302549)
DEC nummer: 2012.I.05.075

Neurofysiologie van syntaxperceptie
Achtergrond: Taal is een unieke menselijke eigenschap, maar ten minste een deel van de onderliggende mechanismen die ten grondslag liggen aan taal komen ook bij dieren voor. Vooral zangvogels zijn interessant in dit opzicht, omdat ze net zoals bij de mens hun vocalisaties leren door imitatie, en ook omdat hun vocalisaties vaak complex zijn. Vogelzang bestaat meestal uit verschillende elementen die volgens bepaalde regels in specifieke volgordes voorkomen ('syntax'), wat in een aantal (maar zeker niet alle) opzichten lijkt op hoe klanken in taal gestructureerd worden. Recent onderzoek laat zien dat vogels inderdaad syntactische patronen kunnen herkennen, maar er is vrijwel niets bekend over de onderliggende neurale mechanismen die dit mogelijk maken.
Doel/hypothese: Met voorgestelde onderzoek proberen de onderzoekers inzicht te verkrijgen in hersenactiviteit die het waarnemen van syntactische patronen in vocalisaties mogelijk maken in de zebravink, een vogelsoort die al decennia lang een belangrijk modelsysteem vormt voor het bestuderen van vocaal imitatieleren. Daarnaast proberen ze een methode te ontwikkelen die het meten van de capaciteiten wat het waarnemen van ingewikkelde syntactische patronen betreft, efficiënter maakt. Tot nog toe wordt dit onderzocht door dieren te trainen om aan te geven of ze al dan niet een verschil horen tussen twee test geluiden, maar deze methode vergt vaak vele maanden training per dier. Directe neurofysiologische metingen zouden de tijdspanne kunnen reduceren tot ongeveer één
dag per dier.
Globale aanpak vraagstelling: Vogels worden eerst volledig verdoofd, waarna een set van elektrodes via microchirurgische technieken in het brein worden geplaatst. Terwijl de vogels onder volledige verdoving blijven worden geluiden afgespeeld die een bepaalde syntax hebben, en die steeds herhaald worden. Tegelijkertijd wordt hersenactiviteit opgenomen in verschillende auditieve gebieden. Soms wordt een geluid afgespeeld waarvan de syntax niet klopt. De onderzoekers verwachten op grond van eerder onderzoek een speciale respons op geluiden die een verwacht patroon doorbreken, en kunnen op deze manier meten of de vogel het syntactische patroon inderdaad waarneemt. "Waarnemen" is misschien een raar begrip onder volledige verdoving, maar het is waarschijnlijk zo dat bij vogels, net zoals bij mensen, automatische mechanismen verantwoordelijk zijn voor het herkennen van syntax. Zulke mechanismen vereisen geen aandacht en functioneren vaak voor een deel ook in verdoofde dieren. Dit soort onderzoek kan niet gedaan worden zonder het gebruik van proefdieren omdat we nog onbegrepen, fundamentele mechanismen van cognitieve hersenprocessen onderzoeken waarvoor directe metingen in het brein noodzakelijk zijn. Vanwege de risico's die gepaard gaan met dit soort experimenten kunnen zulke metingen niet in mensen gedaan worden.

Titel studie: FOK SOD1-G93A
DEC nummer: 2012.I.05.076

De transgene muizen worden gebruikt in het kader van onderzoek naar amyotrofische laterale sclerose (ALS). ALS is een ernstige progressieve ziekte waarbij de motorische neuronen afsterven wat zwakte in spieren tot gevolg heeft. De klinische verschijnselen zijn paralyse, moeite met spraak en slikken en uiteindelijk overlijden ALS patiënten gemiddeld na 3 jaar, meestal aan de gevolgen van respiratoire insufficiëntie. Tot op heden is er geen effectieve therapie voor ALS. Hoewel er in de meeste ALS gevallen op zich lijken te staan, komt het in sommige families vaker voor. Ongeveer 20% van die familiaire ALS gevallen is een mutatie in het SOD1-gen verantwoordelijk voor de ziekte. Deze patiënten zijn echter op klinisch en neuropathologisch niveau nauwelijks te onderscheiden van patiënten zonder mutatie. Muizen die het gemuteerde (humane) SOD1-gen tot expressie brengen, ontwikkelen een fenotype dat sterk lijkt op humaan ALS en worden daarom veel gebruikt als model voor ALS; degeneratie van motorische neuronen, verlamming, maar ook op moleculair

niveau zijn er veel overeenkomsten met humaan ALS. Rond dag 90 ontwikkelen deze dieren een spierzwakte in de achterpoten wat uiteindelijk leidt tot verlammingsverschijnselen rond de 110 dagen. Later ontwikkelt zich ook zwakte aan de voorpoten Binnen onze onderzoeksgroep wordt dit muismodel gebruikt om een beter inzicht te krijgen in de pathogenese van ALS. Ook worden de dieren gebruikt voor het testen van potentiele medicatie voor toekomstige klinische trials.

Vergadering 27 juni 2012

Titel studie: Het effect van LPS-geïnduceerde anhedonie op monoaminelevels in de prefrontale cortex
DEC nummer: 2012.I.06.077

Uitzoeken hoe activatie van het immuunsysteem de signalering verandert in een hersengebied dat betrokken is bij depressie

Achtergrond: Er zijn steeds meer aanwijzingen dat het immuunsysteem een rol speelt bij depressie. LPS is een stofje dat het immuunsysteem activeert en in staat is om depressie-achtig gedrag (verlies van plezier) bij dieren te induceren. Eerder hebben we aangetoond dat LPS leidt tot verhoogde afgifte van afbraakproducten van signaalstoffen in het beloningscentrum van de hersenen. Er zijn sterke aanwijzingen dat in een ander hersengebied, dat een controlerende rol heeft op emoties en betrokken is bij depressie, de reactie op LPS anders is. Wij willen uitzoeken hoe.
Doel/hypothese: In dit onderzoek willen uitzoeken hoe LPS de monoaminesignalering in de hersenen beïnvloedt.
Globale aanpak vraagstelling: Om signaalstoffen in de hersenen te meten worden muizen gedurende een dag aangesloten op een meetsysteem waarmee we signaalstoffen en de afbraakproducten van deze signaalstoffen in de hersenen kunnen meten. Tijdens de metingen worden de dieren blootgesteld aan een stofje, LPS, dat het immuunsysteem activeert om te kijken of de afgifte van signaalstoffen inderdaad verandert.

Titel studie: Op zoek naar het neurale substraat van voedselverslaving
DEC nummer: 2012.I.06.078

Op zoek naar het neurale substraat van voedselverslaving

Achtergrond: Obesitas en de daaraan verbonden aandoeningen (hart en vaatziekten, diabetes type II, kanker) vormt een enorme aanslag op de volksgezondheid. Als de huidige trend wat betreft zwaarlijvigheid zich voortzet, ziet het er naar uit dat de huidige generatie in de westerse wereld de eerste generatie ooit is met een kortere levensverwachting dan hun ouders. Het is overduidelijk dat de moderne westerse maatschappij, waarin lekker maar ongezond eten overal beschikbaar is, een belangrijke rol speelt in dit proces. Toch is niet iedereen gevoelig voor de prikkel van lekker eten.
Als we er van uit gaan dat iedereen eten op zich lekker vindt (toegeven: smaken verschillen, maar er zal voor iedereen wel wat te vinden zijn) is er blijkbaar toch grote variëteit in de hoeverre mensen in staat zijn hun eetdrift te onderdrukken. Dit varieert van mensen die een zeer sterke controle hebben, tot mensen die zo weinig controle hebben dat je zelfs zou kunnen spreken van voedselverslaving. Maar ook daartussenin bevindt zich een groep mensen met verminderde controle die toch meer eten dan goed voor ze is (en meer dan ze eigenlijk zouden willen) wat op lange termijn zeer schadelijke gevolgen voor hun gezondheid kan hebben. De vraag is: wat is er anders in de hersenen van mensen die wel controle houden ten opzichte van mensen die de controle verliezen?
Doel/hypothese: Met dit onderzoek willen we onderzoeken wat de neurale basis is van deze verminderde (of juist sterke) controle over voedselinname. Waar we specifiek naar kijken is of verminderde controle misschien het gevolg is van een niet goed functionerend beloningscircuit wat door het bewustzijn niet meer goed afgeremd kan worden. Daarnaast is het mogelijk dat stress en belangrijke rol speelt. Gestreste mensen zijn immers veel gevoeliger voor eetbuien (maar ook voor drugs verslaving) dan ontspannen mensen.
Globale aanpak vraagstelling: We testen dieren op zeer veel verschillende punten zodat we goed kunnen zien of ze wel of niet goede controle hebben over hun voedselgedrag. Net als bij mensen kunnen we zo een spectrum maken van

dieren die zeer veel controle hebben, tot dieren die zo weinig controle hebben, dat ze wel voedsel verslaafd lijken. Vervolgens voeren we manipulaties uit binnen het belonings- en het stresssysteem in de hersenen van deze dieren zodat we kunnen kijken wat het effect hiervan is op het de controle over voedselinname.

Titel studie: Invloed van een neuroimmunomodulatoir dieet op het gedrag in een VPA-geïnduceerd muizenmodel voor autisme
DEC nummer: 2012.I.06.079

De invloed van een dieet dat zowel het zenuwstelsel als het immuunsysteem kan beïnvloeden, op het gedrag in een muizenmodel voor autisme

Achtergrond: Autisme is een complexe ontwikkelingsstoornis die o.a. wordt gekarakteriseerd door afwijkend sociaal gedrag. De oorzaak van deze ziekte is tot dusver grotendeels onbekend, hoewel veelal beweerd wordt dat autisme een gevolg is van een combinatie tussen genetische aanleg en omgevingsfactoren. Eén van deze omgevingsfactoren is het gebruik van het anti-epilepticum valproïnezuur (VPA) door moeders tijdens de zwangerschap. De kans op het ontwikkelen van autisme in de nakomelingen blijkt zeven keer groter te zijn bij moeders die tijdens de zwangerschap een monotherapie ondergaan met valproïnezuur. In ons vorig experiment hebben we laten zien dat prenatale blootstelling aan VPA bij muizen leidt tot sociale gedragsveranderingen die gerelateerd zijn aan autisme. Aangezien deze gedragsveranderingen door verscheidene groepen gepubliceerd is, wordt het VPA model gezien als een valide muizenmodel voor autisme. Naast gedragsafwijkingen zijn verstoorde immuun responsen een vaak voorkomend fenomeen bij autistische patiënten. Er wordt steeds vaker gesuggereerd dat afwijkingen in het immuunsysteem, met name in de darm, kunnen bijdragen aan de uiting van autistisch gedrag. Ongeveer 30% van de autistische populatie ondervindt gastro-intestinale problemen. Uit ons eerste experiment hebben wij aanwijzingen verkregen dat er sprake is van een ontsteking in de darmen van de nakomelingen die prenataal behandeld zijn met VPA.

Doel/hypothese: In dit experiment willen we onderzoeken of een pre- en/of postnatale behandeling met een specifiek dieet effect heeft op de gedragsafwijkingen en/of de immunologische parameters in o.a. de darmen van de nakomelingen. Dit specifieke dieet bevat een toevoeging van componenten die effect hebben op zowel het immuun systeem als het zenuwstelsel, namelijk vitamine A en B, omega-3 meervoudig onverzadigde vetzuren en een combinatie van anti-inflammatoire aminozuren.

Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek willen we een bestaand VPA-geïnduceerd muizenmodel voor autisme gebruiken, waarin we in een vorig experiment gedragsafwijkingen hebben gevonden en aanwijzingen dat er sprake is van een ontsteking in de darmen van de nakomelingen die prenataal behandeld zijn met VPA. In dit experiment willen we onderzoeken wat het effect is van een dieet, dat zowel het zenuwstelsel als het immuunsysteem kan beïnvloeden, op de gedragsafwijkingen en darmontsteking in de prenataal behandelde nakomelingen.

Titel studie: Interactie tussen CRF en dopamine: prepulse inhibitie
DEC nummer: 2012.I.06.080

Interactie tussen boodschapperstoffen CRF en dopamine: informatieverwerking

Achtergrond: Langdurige stress verhoogt concentraties van de boodschapperstof CRF in de hersenen. Dit heeft een negatieve invloed op de filtering van informatie uit de omgeving; hetgeen dat ook verstoord is bij psychose. In dit project wordt het onderliggende mechanisme onderzocht. In de huidige studie kijken we naar de interactie van CRF met de boodschapperstof dopamine.

Doel/hypothese: In deze studie wordt bekeken of informatieverwerking die is verstoord door de psychostimulant d-amfetamine, kan worden verbeterd met een CRF-antagonist (-remmer). Dit zou betekenen dat CRF signalering een rol speelt in de verstorende werking van amfetamine.

Globale aanpak vraagstelling: Door toediening van d-amfetamine wordt de informatieverwerking van ratten verstoord. Dit meten we door te kijken naar hun reactie op verschillende geluiden. Vervolgens kijken we of deze informatieverwerking verbetert als er eerst een CRF-antagonist wordt gegeven.

Titel studie: Effects of memantine and escitalopram on the gastrointestinal pathology in an animal model of cognitive decline and depression induced by olfactory bulb ablation
DEC nummer: 2012.I.06.081

Effecten van memantine en escitalopram op de gastro-intestinale pathologie in een diermodel van cognitieve achteruitgang en depressie veroorzaakt door bulbus olfactorius ablatie

Achtergrond: De ziekte van Alzheimer is een neurodegeneratieve aandoening bij ouderen die samengaat met een progressieve achteruitgang van cognitief functioneren, gedragsverandering en sterke inperking van alledaagse activiteiten. Behalve de ernstige ziektebeelden van cognitieve achteruitgang en gedragsproblemen, lijden Alzheimerpatiënten vaak aan maag- en darmproblemen. Hoewel de maag- en darmproblemen vaak een slopend probleem vormen voor oudere patiënten, suggereert de vaak voorkomende associatie van constipatie met neurologische ziekten dat een ziektebeeld van het centrale zenuwstelsel tevens het zenuwstelsel van het spijsverteringskanaal kan omvatten. Belangrijk is dat de ontstekingsremmers celecoxib en minocycline angstgeheugen verbeteren zonder invloed te hebben op het ruimtelijk geheugen. Daarnaast verminderde omgevingsverrijking hyperactiviteit bij ratten met een verwijderde reukkolf, zonder effect op geheugeninperking. Aangezien zowel memantine als celecoxib werden toegediend voor de reukkolfverwijdering, vermoeden we dat vroege ziekteverschijnselen, zoals neuro-ontsteking en excitotoxiciteit (overstimulatie van glutamaatreceptoren), belangrijk zijn bij afwijkingen die veroorzaakt zijn door reukkolfverwijdering. Voorts ontdekten we in ons eerdere experiment dat de verwijdering van reukkolven niet alleen de hersenen en het gedrag beïnvloeden, maar ook de maag- en darmfunctie van de dieren. Om precies te zijn ontdekten we dat reukkolfverwijdering leidt tot maag- en darmontsteking en constipatie in de dieren, terwijl zij dezelfde hoeveelheid voedsel aten. Significant is dat maag- en darmproblemen ook zijn vastgesteld in patiënten die lijden aan de ziekte van Alzheimer en depressie. Ondanks de ernstige gevolgen van maag- en darmproblemen voor patiënten en de potentiële rol daarvan in de aanzet van deze ziekten is hier een tekort aan beschikbare informatie over. In ons eerdere experiment verbeterde de medische voedingsingreep niet alleen de cognitieve en moleculaire beperkingen die waren veroorzaakt door reukkolfverwijdering, maar normaliseerde de voedingsingreep tevens de maag- en darmproblemen van deze ratten. Hoewel onze experimenten interessante gegevens opleverden, wierpen ze ook een aantal belangrijke experimentele vragen op die wij willen beantwoorden in volgende experimenten.

Doel/hypothese: Het doel van deze experimenten is om te onderzoeken of farmacologische middelen, zoals memantine en escitalopram, die gedragsproblemen en cognitieve beperkingen na reukkolfverwijdering bleken te verminderen, maag- en darmproblemen veroorzaken. Tevens willen we de rol van reukverlies onderzoeken in de beginfase van cognitieve beperking en de maag- en darmontsteking van ratten met verwijderde reukkolven. Het uiteindelijke doel zal zijn om nieuwe richtpunten ter behandeling en voorkoming van de ziekte van Alzheimer vast te stellen.

Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek wordt gebruik gemaakt van ratten. De complexiteit van de hersenen maakt het onmogelijk om het soort onderzoek dat wij doen in celkweek te kunnen uitvoeren. We gebruiken in deze studie zowel muizen als ratten om de vertaalbaarheid van onze resultaten naar de mens groter te maken. Uit eerdere experimenten weten we dat dieet effect heeft op de behandeling van darmontsteking. We willen nu onderzoeken of antidepressivum en een geneesmiddel dat gebruikt wordt voor de ziekte van Alzheimer hetzelfde effect heeft op de darmen (exp. 1 en 2). En of maag- en darmproblemen en cognitieve stoornissen, de reden zijn van de neurodegeneratieve processen of dat het verlies van het reukvermogen daar de oorzaak van is (exp. 3). Zowel in exp.1 en exp.2 zullen de effecten van OBX vergeleken worden met de effecten van een schijnoperatie.

Titel studie: De moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan de vorming van neuronale connecties van de habenula en het dopaminerge midbrein
DEC nummer: 2012.I.06.082

De moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan de vorming van neuronale connecties van de habenula en het dopaminerge midbrein

Achtergrond: Het onderzoek is gericht op bestrijding van aandoeningen die in verband worden gebracht met afwijkingen van connecties in de hersenen. Dit onderzoek richt zich specifiek op de habenula en het dopaminerge midbrein dat een rol speelt bij o.a. depressie.

Doel/hypothese: De hoofddoelstelling van deze onderzoeksgroep is het vergroten van kennis over de ontwikkeling van neuronale netwerken. Het doel van dit specifieke project is het ontrafelen van het mechanisme dat de vorming van connecties tussen de habenula en het dopaminerge midbrein stuurt. Globale aanpak vraagstelling: In de muis wordt gekeken op welke wijze de connecties tussen de habenula en het dopaminerge midbrein ontstaan. Dit zal gedaan worden d.m.v. kleuringen die deze banen en moleculen zichtbaar maken en in vitro experimenten op hersenweefsel waarbij deze moleculen gemanipuleerd worden. Vanwege de complexiteit van dit systeem zijn cellijnen ongeschikt.

Vergadering 15 augustus 2012

Titel studie: De rol van IDO in LPS geïnduceerde anhedonie
DEC nummer: 2012.I.08.084

De rol van IDO in depressie
Achtergrond: Activatie van het immuunsysteem leidt tot verhoging van het enzym IDO in de hersenen en anhedonie. Anhedonie is het onvermogen om te kunnen genieten en een kernsymptoom van depressie. 1-methyl tryptofaan remt IDO. We willen onderzoeken of remming van IDO met 1-methyl tryptofaan leidt tot minder anhedonie.
Doel/hypothese: Uitzoeken of remming van IDO leidt tot minder anhedonie
Globale aanpak vraagstelling: Anhedonie meten we met intracraniale zelfstimulatie. Een elektrode wordt geplaatst in het beloningscentrum van het brein. Door aan een wiel te draaien bepaalt het dier zelf of dit gebied gestimuleerd wordt. Stimulatie van dit gebied wordt als prettig ervaren. Door de stroomsterkte te variëren bepalen we de gevoeligheid van het beloningscentrum. Deze is constant over de tijd. Echter, immuun activatie maakt het beloningssysteem minder gevoelig. Dit wordt gezien als anhedonie. Een hogere stroomsterkte is nodig om het beloningscentrum te activeren. In dit onderzoek activeren we het immuunsysteem van muizen en kijken of 1-methyltryptofaan in staat is om de verandering in gevoeligheid van het beloningscentrum als gevolg van immuun activatie tegen te gaan.

Titel studie: Characterization of rewards sensitivity in Nfatc2 knockout mice
DEC nummer: 2012.I.08.085

Karakterisering van belonings-gevoeligheid in Nfatc2 knock-out muizen
Achtergrond: Hyperactiviteit is een belangrijke eigenschap van eetstoornissen. De ontrafeling van de genetische bijdrage aan deze eigenschap kan bijdragen aan de verbetering van de behandeling van deze patiënten. Er zijn al bepaalde kandidaat genen die mogelijk een belangrijke rol spelen in de ontwikkeling van eetstoornissen. Een voorbeeld is het Nfatc2 gen. Muizen zonder dit gen lopen significant minder in een loopwiel en dit beschermt de dieren tegen versneld lichaamsgewichtverlies in een diermodel voor anorexia. Er zijn geen andere fenotypes veroorzaakt door het Nfatc2 gen, bijvoorbeeld sensomotorische tekorten, die ook bijdragen aan het verminderde loopwiel activiteit. We denken dat de verminderde belonings-gevoeligheid ten grondslag ligt aan de vermindering in loopwiel activiteit. Om deze hypothese te testen, willen we een sucrose preferentietest uitvoeren. Tijdens dit experiment hebben muizen een vrije keus tussen twee flessen – een met water en een met sucrose. Het niveau van voorkeur voor sucrose boven water is een maat voor beloningsgevoeligheid. Het is belangrijk om deze hypothese in muizen te onderzoeken, voordat men met studies over de rol van Nfatc2 in de regulatie van loopactiviteit in mensen kan beginnen. Om die reden zal genetisch gemodificeerde muizen met verwijderde Nfatc2 gen worden onderzocht voor gevoeligheid voor beloning. Om deze hypothese te testen we willen een sucrose preferentietest uitvoeren. Tijdens dit experiment hebben muizen een vrije keus tussen twee flessen – een met water en een met sucrose. Het niveau van voorkeur sucrose boven water is een maat voor beloningsgevoeligheid.
Doel/hypothese: Het doel van de studie is om te beoordelen of verminderde loopwiel activiteit in Nfatc2 muizen wordt veroorzaakt door de daling van de gevoeligheid voor beloning van die muizen.
Globale aanpak vraagstelling: Om de rol van genen in gedrag te onderzoeken is proefdieronderzoek noodzakelijk. Genetische gemodificeerde muizen en het wild type controle dieren worden onderzocht op gevoeligheid voor beloning.

Titel studie: Unraveling the mechanism of mesenchymal stem cell-induced corticospinal tract remodeling which promotes functional recovery after ischemic brain damage
DEC nummer: 2012.I.08.086

Stamcel behandeling na neonatale hersenschade en herstel van de motorbanen
Achtergrond: Zuurstofgebrek rond de geboorte is een veelvoorkomende oorzaak van hersenschade in de pasgeborene. Tot op heden is er geen therapie beschikbaar die de gedane schade kan verminderen. Eerdere studies in een muismodel hebben al laten zien dat het behandelen van hersenschade bij de pasgeborene met beenmerg afkomstige stamcellen een positief effect heeft op de hoeveelheid schade. Na behandeling van hersenschade met stamcellen gaan de zenuwcellen in de hersenen nieuwe netwerken vormen, waardoor de motoriek verbeterd. Het is echter nog onbekend hoe de stamcellen de vorming van nieuwe netwerken stimuleren.
Doel/hypothese: Door behandelen van hersenschade in de pasgeboren muis met stamcellen wordt in de zenuwcellen, betrokken bij de aansturing van de poten, een groeiprogramma aangezet waardoor een het netwerk hersteld wordt.
Globale aanpak vraagstelling: Uit de hersenen van jonge muizen met hersenschade al dan niet behandeld met stamcellen worden de zenuwcellen, betrokken bij motoriek, geïsoleerd. In deze zenuwcellen willen we bepalen of de expressie van specifieke genen betrokken bij de ontwikkeling van de hersenen veranderd zijn.

Titel studie: Studie naar de verschillen van varkens die na het spenen in een verrijkte of kale omgeving opgroeien in een cognitieve holeboard test
DEC nummer: 2012.I.08.087

Studie naar de effecten van het opgroeien in een kale of verrijkte omgeving op leer- en geheugenprestaties van varkens
Achtergrond: De intensieve varkenshouderij wordt steeds meer geïndustrialiseerd. Dit betekent dat taken zoals voeren worden geautomatiseerd. De boer loopt niet meer zelf door de stallen om zijn varkens te voeren maar machines nemen deze taak over. Varkens moeten aan deze machines wennen doordat zij leren hoe zij in deze voermachines binnen moeten gaan en wanneer hun voertijden zijn. Dit betekent voor het varken dat het een goed werkend ruimtelijk denken en herinnering moet hebben. Als varkens niet over een goed vermogen van ruimtelijk denken en herinnering beschikken, is het voor hen heel moeilijk zich in deze stal met voermachines terecht te kunnen vinden. Zij zullen bijvoorbeeld voertijden missen en dus honger moeten lijden. Verder betekent het niet terecht vinden in zijn omgeving stress voor het varken die het welzijn van het varken negatief beïnvloedt.
Doel/hypothese: Er zullen twee groepen varkens na het spenen (ontwend van de zeug) op een verschillende manier gehuisvest worden. Een groep zal in een kale omgeving opgroeien die gelijk is aan de omgeving van varkens gehuisvest in intensieve varkenshouderijen. De stal heeft een betonnen grond, geen stro en de varkens beschikken over een ijzeren ketting in hun pen waar zij op kunnen bijten. De andere groep wordt in een heel verrijkte omgeving opgefokt, met turf als grond dienend als wroet materiaal. Verder krijgen zij verschillend steeds afwisselend speelgoed in hun stal. De hypothese van het experiment is, dat de varkens uit de verrijkte omgeving een beter ontwikkeld ruimtelijk denken en geheugen zullen vertonen dan de varkens uit de kale omgeving. Dit zal vervolgens een indicatie zijn voor het adaptatie vermogen van de dieren.
Globale aanpak vraagstelling: Twee groepen varkens zullen na het spenen in twee verschillende omgevingen (kaal en verrijkt) opgroeien. De varkens uit de verrijkte omgeving hebben als grondmateriaal turf en stro om het natuurlijke wroetgedrag uit te kunnen voeren. Verder krijgen deze varkens om de twee dagen nieuw speelmateriaal aangeboden (takken, jute zakken en speciaal varkens speelgoed). De varkens uit de kale omgeving hebben zoals in de intensieve varkenshouderij alleen een betonnen vloer en een ijzeren ketting met een bijtbal aan het eind als speelgoed. Deze twee groepen

worden vervolgens in een cognitieve holeboard test getest met betrekking tot hun ruimtelijke denken en geheugen. Dit wordt gedaan doordat de varkens tijdens de test voer moeten zoeken dat op verschillende plekken is verstopt. De varkens worden vaker getest om hun leerprestatie vast te stellen en te kijken hoe goed zij de voerplaatsen kunnen herinneren.

Titel studie: The effect of JNK inhibition by D-JNK on neonatal hypoxic ischemic brain injury after sensitisation with LPS
DEC nummer: 2012.I.08.088

Invloed van remmen van het JNK eiwit op, door een ontsteking en zuurstoftekort rond de geboorte veroorzaakt hersenschade in pasgeborenen
Achtergrond: Hersenschade door zuurstoftekort (hypoxie ischemie, HI) rondom de geboorte is de meest voorkomende oorzaak van sterfte en blijvende neurologische schade bij pasgeborenen. Er is nog onvoldoende bekend over hoe hersenschade bij zuurstoftekort ontstaat en daarbij zijn de behandelingsmogelijkheden zeer beperkt. Vaak gaat zuurstof tekort rond de geboorte gepaard met een ontstekingsreactie in de baarmoeder waardoor de hersenschade wordt verergerd. Naast ontsteking is apoptotische celdood een belangrijk proces welke bijdraagt aan HI hersenschade. JNK is een eiwit wat betrokken is bij zowel ontsteking als celdood. In voorgaand onderzoek door onze onderzoeksgroep hebben we gevonden dat remming van D-JNKi na neonatele HI het ontstaan van hersenschade voor een groot deel kan voorkomen.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is te onderzoeken wat het effect is van remming van JNK middels D-JNKi, op HI hersenschade bij pasgeboren muizen met een ontsteking, waarbij inflammatie een grotere rol speelt.
Globale aanpak vraagstelling: De muizen krijgen een injectie met LPS in de buikholte wat zorgt voor een ontsteking. Daarna wordt het zuurstofgebrek in de hersenen nagebootst in pasgeboren muizen. De muizen worden hierna behandeld met de D-JNK of met oplosmiddel. Er wordt op 3 tijdstippen gekeken; op 24u na HI wordt gekeken naar het aantal ontstekingscellen en celdood, na 5dagen wordt de grootte van het infarct beoordeeld voor grijze en witte stof schade, na 3 weken wordt gekeken of de muizen qua gedrag beter functioneren en wordt er gekeken naar histologie.

Titel studie: The effect of C1-inhibitor on neonatal hypoxic ischemic brain injury after sensitisation with LPS
DEC nummer: 2012.I.08.089

Invloed van rhC1inhibitor (ontstekingsremmende stof) op, door een ontsteking en zuurstoftekort rond de geboorte veroorzaakte hersenschade in pasgeborenen
Achtergrond: Hersenschade door zuurstoftekort (hypoxie ischemie, HI) rondom de geboorte is de meest voorkomende oorzaak van sterfte en blijvende neurologische schade bij pasgeborenen. Er is nog onvoldoende bekend over hoe hersenschade bij zuurstoftekort ontstaat en daarbij zijn de behandelingsmogelijkheden zeer beperkt. Vaak gaat zuurstof tekort rond de geboorte gepaard met een ontstekingsreactie in de baarmoeder, waardoor de hersenschade wordt verergerd. Complement is nodig voor een goede afweer tegen micro-organismen, maar zorgt door de ontstekingsreactie ook voor extra weefselschade en celdood. Door complement te remmen (middels C1-inhibitor) kan de hersenschade verminderd worden en hopelijk ook bij de pasgeborenen, waarbij zowel sprake is van zuurstoftekort als een ontsteking, zorgen voor een betere prognose en ontwikkeling.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is te onderzoeken wat het effect is van C1-inhibitor (ontstekingsremmer) op HI hersenschade bij pasgeboren muizen met een ontsteking, en te bepalen op welke manier de complementremmer het beste gegeven kan worden.
Globale aanpak vraagstelling: De muizen krijgen een injectie met LPS in de buikholte wat zorgt voor een ontsteking. Daarna wordt het zuurstofgebrek in de hersenen nagebootst in pasgeboren muizen. De muizen worden hierna behandeld

met de C1-inhibitor of met oplosmiddel. Er wordt op 3 tijdstippen gekeken; op 24 uur na HI wordt gekeken naar het aantal verschillende ontstekingscellen en celdood, na 5 dagen wordt de grootte van het infarct beoordeeld voor grijze stof schade, na 3 weken wordt gekeken naar motorisch gedrag en wordt de infarct grootte beoordeeld.

Titel studie: Characterization of Lgr5 positive stem cell activity in murine cochlea
DEC nummer: 2012.I.08.090

Karakterisering van Lgr5 positieve stamcellen in de cochlea van de muis
Achtergrond: Gehoorverlies als gevolg van de voor geluid gevoelige haarcellen in het binnenoor (de cochlea) is de meest voorkomende vorm van ernstige slechthorendheid. Tegenwoordig wordt deze aandoening behandeld met cochleaire implantaten die de gehoorzenuw elektrisch stimuleren. Dit is echter een incomplete oplossing die restricties introduceert in het leven van geïmplanteerden. Het apparaat is bijvoorbeeld weinig effectief op plaatsen met veel achtergrondlawaai, zoals restaurants. De meest optimale vorm van herstel van het normale gehoor zou regeneratie van de haarcellen zijn. Een mogelijkheid daartoe zou het inzetten van stamcellen kunnen zijn. Stamcel gebaseerde studies op dit terrein zijn nog in een vroege fase, maar de resultaten zijn veelbelovend. Een paar studies laten
regeneratie van haarcellen zien in kweekbakjes met geïsoleerde cochlea's en zeer specifieke groeifactoren. Een groep liet expressie en distributie zien van stamcellen in de cochlea van de muis. Dit waren zogenaamde Lgr5 positieve stamcellen. Dezelfde groep liet later zien dat deze cellen in een kweekbakje haarcellen kunnen worden met de juiste groeifactoren in het medium. Een probleem is dat alle studies gebruik maakten van embryo's of zeer jonge muizen. Ons doel is het karakteriseren van deze cellen in de cochlea van volwassen, doof gemaakte muizen. Daaropvolgend willen we onderzoeken of we bioactieve stoffen kunnen vinden die 1) de Lgr5 cellen omvormen tot haarcellen en 2) in de cochlea gebruikt kunnen worden. Als we daarin slagen, leveren we een belangrijke bijdrage aan de ontwikkeling van een nieuwe methode om ernstige slechthorendheid te genezen.
Doel/hypothese: Het doel van dit project is de analyse van aanwezigheid en activiteit van Lgr5 positieve stamcellen in de cochlea van normale en doof gemaakte muizen. Daarnaast willen we de agonisten R-spondine1 en Wnt3A gebruiken om de cellen te activeren.
Globale aanpak vraagstelling: Allereerst zullen we op moleculair niveau de degeneratie van het zintuigepitheel in doof gemaakte muizen karakteriseren, met speciale belangstelling voor de populatie Lgr5-positieve cellen. In een latere fase willen we deze populatie beïnvloeden door gebruik te maken van moleculen die natuurlijke agonisten zijn voor Lgr5. Wij hebben gekozen voor de muis, omdat deze soort het meest gebruikt wordt in stamcelstudies. Bovendien heeft de muis een binnenoor dat lijkt op dat van een mens, hoewel de gevoeligheid in een veel hoger frequentiegebied ligt. Het bestuderen van het proces van doof worden en de daarbij horende processen van de- en regeneratie kan in zo'n complex orgaan alleen in levende dieren worden gedaan, niet in bijvoorbeeld celculturen.

Titel studie: Identificatie van het neurale substraat van voedsel en drugs zoek gedrag en beloning, een optogenetische aanpak
DEC nummer: 2012.I.08.091

Eten terwijl je geen honger hebt
Achtergrond: Je eet niet altijd omdat je honger hebt. Sterker nog, als het lekker eten betreft hebben de meeste mensen eigenlijk altijd wel trek. Dit kan een probleem zijn, sterker nog, dit zou wel eens de grootste bedreiging voor de volksgezondheid kunnen zijn, want met teveel eten gaan zeer ernstige
aandoeningen gepaard. In dit onderzoek willen we kijken hoe het systeem dat voor 'eten omdat je het lekker vindt' (het mesolimbisch systeem) het 'eten omdat je honger hebt' (hypothalamus) systeem, beïnvloed. In andere woorden, we gaan een verbinding tussen deze twee systemen bekijken waarvan we vermoeden dat hij een belangrijke rol speelt bij het eten,

terwijl je geen honger hebt.
Doel/hypothese: Doel: uitzoeken waarom we soms blijven eten terwijl ons lichaam geen energie meer nodig heeft. Hypothese: Dit komt doordat het mesolimbisch systeem, de hypothalamus beïnvloedt.
Globale aanpak vraagstelling: We willen specifiek kijken naar de invloed van één enkele verbinding in de hersenen op eetgedrag. Dit doen we door de rat op zo'n manier te behandelen dat alleen de cellen waaruit deze verbinding bestaat lichtgevoelig worden gemaakt. Dit houdt in dat we deze cellen, in een levend dier, met behulp van laserlicht, 'aan' of 'uit' kunnen zetten. We gaan dit doen bij een rat die geen honger heeft, om te kijken of we hem hierdoor kunnen laten eten en bij een rat die juist wel honger heeft om te kijken of we hem hierdoor kunnen laten stoppen met eten. We kijken in dit experiment naar gedrag en alleen levende organismen vertonen gedrag, daarom zullen we daarmee werken.

Titel studie: Karakterisatie van microtubule stabiliteit en membraan trafficking in een muis model voor de ziekte van Huntington
DEC nummer: 2012.I.08.092

Karakterisatie van membraan transport en microtubule stabiliteit in een Huntington muis model
Achtergrond: De ziekte van Huntington is een neurodegeneratieve aandoening die zich kenmerkt door onwillekeurige bewegingen, veranderingen in gedrag en ernstige psychiatrische problemen. De symptomen beginnen vaak rond het 40ste levensjaar en worden steeds ernstiger. Patiënten overlijden vaak aan aanverwante complicaties zoals een longontsteking en hartfalen binnen 20 jaar na het waarnemen van de eerste symptomen. De ziekte wordt veroorzaakt door een verlengde herhaling van het aminozuur glutamine (Q) in het eiwit Huntingtin (HTT). Bij niet aangedane individuen bestaat deze stretch uit maximaal 40 Qs; individuen met een lengte boven de 40 Qs zullen de verschijnselen krijgen en steeds meer achteruitgaan. In deze individuen zal het eiwit door deze lange Q-lengte aggregeren (samenklonteren) in specifieke zenuwcellen en zo hun normale functioneren verstoren. Andere neurodegeneratieve aandoeningen, zoals de ziekte van Alzheimer, waarbij eiwit aggregaten gevormd worden in de zenuwcellen, zijn geassocieerd met problemen in het cytoskelet, het intracellulaire transport en de membraan circulatie. Wij willen nu nauwkeurig het effect van de HTT-aggregaten op het cytoskelet, het intracellulaire transport en het transport van membraanstructuren bestuderen in de zenuwcellen die specifiek aangedaan zijn bij de Huntigton patiënten. Hiertoe maken wij gebruik van een zogenaamd knock-in muismodel, die het HTT tot expressie brengt met een stretch van 140 Qs.
Doel/hypothese: Wij willen gedetailleerd onderzoek doen naar verstoringen in de zenuwcellen geïsoleerd uit het muismodel voor de ziekte van Huntington. Onze studies zijn gericht op het effect van de 140QHTT aggregaten op: de dynamiek van het cytoskelet, het transport van motoreiwitten en het transport van membraan structuren in de zenuwcellen.
Globale aanpak vraagstelling: Alle experimenten op de proefdieren zijn hetzelfde: alle manipulaties worden gedaan na decapitatie en het op kweek zetten van de zenuwcellen van de muizen. We doen vervolgens al onze experimenten in de geweekte culturen 1-4 weken na de decapitatie (langer leven de cellen niet). De zenuwcellen worden al dan niet getransfecteerd met verschillende DNA constructen (GFP-fusie eiwitten, RNA interferentie plasmides, virale vectoren etc.) om te functie van verschillende eiwitten, en hun interacties, te bestuderen en zo een beter begrip te krijgen van neuronaal functioneren. Zenuwcellen zijn maar beperkt (4 weken) in kweek houdbaar en kunnen nog niet op een andere manier verkregen worden: geïnduceerde zenuwcellen of neuronale (tumor)cellijnen hebben niet de juiste morfologie en/of vorming van synapsen zoals gevonden in primaire zenuwcellen.

Titel studie: The role of GRK2-Epac1 in chemotherapy-induced pain
DEC nummer: 2012.I.08.093

De rol van GRK2 in chemotherapie geïnduceerde chronische pijn
Achtergrond: Chemotherapie-geïnduceerde pijn is een veel voorkomend klinisch probleem bij behandeling van kanker en een veelvoorkomende oorzaak voor het vroegtijdig stoppen van de therapie. Het is nog niet bekend hoe chemotherapie pijn veroorzaakt. We hebben laten zien dat het molecuul GRK2 en Epac1 belangrijke regulators van de pijn respons zijn en dat we door GRK2 te verhogen chronische pijn kunnen voorkomen. We willen nu de rol van GRK2 en Epac1 onderzoeken in chemotherapie-geïnduceerde pijn.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om de rol van GRK2 en Epac1 te onderzoeken in chemotherapie-geïnduceerde pijn.
Globale aanpak vraagstelling: Het verloop van chemotherapie-geïnduceerde pijn zal worden getest in knockout muizen met verlaagd GRK2 of verlaagd dan wel afwezigheid van Epac1. Daarnaast. Zullen wij het eiwit niveau van GRK2 en Epac1 evalueren na taxol behandeling. Op basis van positieve resultaten van de boven genoemde experimenten zullen wij testen of het op reguleren GRK2 eiwit expressie in sensorische neuronen taxol-geïnduceerde pijn kan remmen.

Titel studie: Karakterisatie van gedragsmatige en moleculaire effecten van kooiverrijking na voetschok stress
DEC nummer: 2012.I.08.094

Karakterisatie van gedragsmatige en moleculaire effecten van kooiverrijking na voetschok stress
Achtergrond: Recent hebben we aangetoond in ons diermodel voor posttraumatische stress stoornis, afgekort PTSS (deze dieren krijgen een aantal voetschokken) dat kooiverrijking angst remmende effecten heeft. Onze belangrijkste onderzoeksvraag is waarom kooiverrijking zo effectief is in het remmen van angst. We willen nu genen en eiwitten in de hersenen identificeren die kunnen dienen als aangrijpingspunt voor nieuwe geneesmiddelen. We gebruiken hiervoor het hersenmateriaal van de ratten die va de stress zijn blootgesteld aan verschillende periodes van kooiverrijking. We hopen dat we een beeld krijgen van de rol die verschillende eiwitten spelen in het herstel na traumatische stress.
Ook willen we onderzoeken wat de gevolgen van traumatische stress zijn op seksueel gedrag. Het is belangrijk om te zien of de dieren na een behandeling weer in verschillende, natuurlijke gedragingen herstel laten zien. Ook is bekend dat een belangrijke bijwerking van de medicatie die bij PTSS wordt gebruikt een verminderd seksueel gedrag tot gevolg heeft bij de mens. Dit onderzoek kan die link tussen stress, seks en de medicatie wellicht iets meer verduidelijken.
Doel/hypothese: We willen nieuwe aangrijpingspunten vinden voor medicatie voor PTSS
patiënten. Hiervoor willen we testen welke genen er veranderen door de angst remmende werking van kooiverrijking. De gedragingen die we meten willen we uitbreiden zodat we onze kennis over de invloed van traumatische stress op gedrag en de onderliggende oorzaken kunnen vergroten.
Globale aanpak vraagstelling: Dieren zullen worden blootgesteld aan voetschokken en vervolgens 3 uur per dag of gedurende de hele dag in verrijkte kooien worden geplaatst. Een gedragstest (open veld) zal worden gedaan om de mate van angst vast te stellen. Na afloop van het experiment worden de hersenen gebruikt voor moleculairbiologisch onderzoek waarmee verandering in genexpressie en eiwitproductie kunnen worden bepaald. Tevens zullen we onderzoeken of seksueel gedrag bij de rat verandert ten gevolge van traumatische stress. Dit levert ons een extra gedragsmaat op die ons kan vertellen of een dier weer volledig hersteld is na een behandeling. Dit onderzoek bestudeert effecten van stress/angst op gedrag. Gedrag kan alleen bestudeerd worden in levende dieren.

Vergadering 12 september 2012

Titel studie: Amygdala mechanismen en hoge alcohol consumptie
DEC nummer: 2012.I.09.095

Amygdala genen en alcoholverslaving
Achtergrond: De kans dat iemand die in aanraking komt met alcohol ook daadwerkelijk verslaafd raakt wordt bepaald door een aantal factoren. Uit wetenschappelijk onderzoek is duidelijk geworden dat, onder meer versterkt door genoemde risicofactoren waaronder genetische verschillen,
alcoholgebruik kan leiden tot veranderingen in de hersenen die resulteren in alcoholverslaving, dat gekenmerkt wordt door verlies van controle over alcoholgebruik. Op dat moment is geen sprake meer van 'eigen verantwoordelijkheid' maar van een hersenziekte. Recent hebben we een 'nieuw' eiwit in verband gebracht met de ontwikkeling van hoge alcoholconsumptie. De mechanismen die hieraan ten grondslag liggen zijn echter nog grotendeels onbekend. In deze studie wordt daarom bepaald welke eiwitcombinatie er samen voor zorgt dat muizen na verloop van tijd meer alcohol gaan drinken.
Doel/hypothese: Onze hypothese is dat een nieuw ontdekt eiwit in de amygdala beschermt tegen het ontstaan van alcoholverslaving door samen te werken met andere eiwitten. Het doel van deze studie is dan ook om de beschermende rol van dit nieuwe eiwit in het ontstaan van alcoholverslaving te toetsen en om te bepalen met welke eiwitten het samenwerkt om alcoholconsumptie te reguleren.
Globale aanpak vraagstelling: Om de rol van het nieuw ontdekte eiwit - 14-3-3 zeta - verder te
onderzoeken worden de niveaus van 14-3-3 zeta in een belangrijk hersengebied voor verslaving verhoogd, dit met als doel de beschermende rol van dit eiwit in het ontstaan van alcoholverslaving bij muizen te bepalen. Daarnaast wordt de regulatie van eiwitten - die aan 14-3-3 zeta binden - door alcoholverslaving bepaald en bepalen we met behulp van farmacologische interventies of deze bindingspartners van 14-3-3 zeta bijdragen aan de regulatie van alcoholconsumptie. Voor deze studie zijn proefdieren noodzakelijk aangezien alcoholisme een complexe hersenaandoening is. De complexe gedragsveranderingen en neurobiologische mechanismen, die ten grondslag liggen aan het ontstaan van alcoholisme kunnen alleen bestudeerd worden in intacte dieren.

Titel studie: Decision making and judgement bias in pigs of low and normal birth weight
DEC nummer: 2012.I.09.096

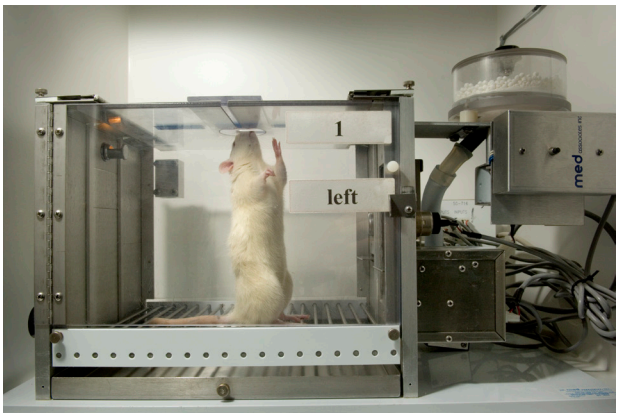
Emoties en besluitvorming van varkens met een laag geboortegewicht
Achtergrond: Besluitvorming is de manier waarop we bij verschillende opties kiezen, terwijl beoordelen betrekking heeft op de raming van de kansen van consequenties. We weten vanuit de humane psychologie dat beiden door de persoonlijkheid en emoties kunnen worden beïnvloed. Mensen met een slechte stemming neigen ertoe, risicovollere beslissingen te nemen, en ze zullen de situatie pessimistischer beoordelen. Wanneer je slechte zin hebt dan zal je een glas als half leeg zien, terwijl je het als half vol ziet wanneer je goede zin hebt. Kinderen met een laag geboortegewicht hebben eveneens moeite met het nemen van beslissingen, en hebben met grotere waarschijnlijkheid in hun latere leven emotionele problemen dan een kind met een normaal geboortegewicht. Bij dieren heeft welzijn niet alleen maar betrekking op de fysieke gezondheid, maar ook op de mentale gezondheid. Het is echter erg moeilijk om bij dieren emoties direct te meten, omdat we ze niet kunnen vragen hoe ze zich voelen. Recent hebben onderzoekers pogingen ondernomen om emoties in dieren te meten, gebaseerd op de wijze waarop hun denken door hun emoties wordt beïnvloed, net zoals dat bij mensen m.b.t besluitvorming en beoordeling gebeurt. Deze studie kijkt naar besluitvorming en beoordeling bij varkens die of

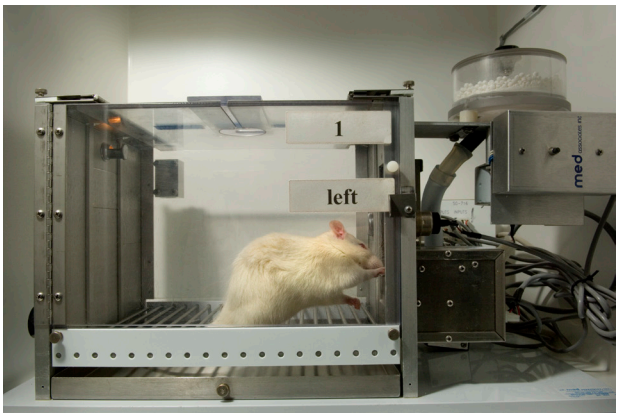
met een normaal gewicht of met een laag gewicht zijn geboren, en vergelijkt deze met persoonlijkheidskenmerken en angstgedrag.
Doel/hypothese: We verwachten dat de varkens met een laag geboortewicht meer problemen hebben met besluitvorming dan varkens met een normaal geboortegewicht, en dat ze pessimistischer zijn.
Globale aanpak vraagstelling: Dit onderzoek probeert een weg te vinden om emoties bij dieren te bestuderen, omdat dit een belangrijke bijdrage kan leveren tot het bepalen van hun welzijn. We moeten in staat zijn te meten, of de dieren zich goed of slecht voelen. Misschien lukt dit door naar de manier te kijken hoe ze besluiten nemen en iets beoordelen. Wij vergelijken varkens met een laag geboortewicht, waarvan we verwachten dat ze problemen met hun emoties en met besluitvorming hebben, met varkens met een normaal geboortegewicht. We willen onderzoeken, of de verschillen tussen de varkens met een laag en normaal geboortegewicht overeenkomen met de verschillen die tussen kinderen met een laag en normaal geboortegewicht zijn gevonden. Het is onmogelijk, deze studie uit te voeren zonder gebruik te maken van dieren. Eerder onderzoek heeft al aangetoond dat de dieren graag in het trainingsprogramma participeren, omdat ze in de tests beloningen kunnen verdienen.

Titel studie: Structural, Functional and pharmacological MRI in serotonin transporter knockout rats after cocaine self administration: the effects of D-cycloserine on the addicted brain
DEC nummer: 2012.I.09.097

Structureel, functioneel en pharmacologische MRI in serotonine transporter knockout ratten na cocaïne zelftoediening: de effecten van D-Cycloserine op het verslaafde brein
Achtergrond: Cocaïne verslaving is een groot probleem in de westerse samenleving. Mensen die door een genetische variatie van nature minder van het serotonine transporter (5-HTT) eiwit bezitten zijn gevoelig voor verslaving en relatief ongevoelig voor de huidige therapieën. In dit onderzoek wordt gebruik gemaakt van een 5-HTT KO rat, een dier dat helemaal geen expressie van 5-HTT heeft en dus een extreem model voor de bovengenoemde groep mensen. Met behulp van MRI, een non invasieve manier om breinstructuren te onderzoeken, hopen wij een duidelijker beeld te krijgen van de verbindingen in het verslaafde brein. Verder wordt er gekeken naar de effectiviteit van een mogelijk geneesmiddel: D-cycloserine (DCS).
Doel/hypothese: 5-HTT KO ratten nemen meer cocaïne in de cocaïne zelftoedieningstest door een verminderde controle over 'genots' hersengebieden. DCS administratie zal deze controle (gedeeltelijk) versterken.
Globale aanpak vraagstelling: 5-HTT KO, en normale ratten zullen in een cocaïne zelftoedieningstest zichzelf cocaïne toedienen. Na 4 weken in deze test zullen de meeste dieren gedrag vertonen dat lijkt op cocaïne verslaving. Na deze cocaïne zelftoediening worden de dieren in een MRI machine gezet. Hier wordt de volume, verbindingen en functies van bepaalde hersengebieden geanalyseerd. Daarna zal een intraveneuze dosis van D-cycloserine worden toegevoegd om het effect van deze stof op de hersenen te bepalen. Als controle groepen worden ook naïeve ratten (geen cocaïne zelftoediening) en sucrose zelftoediening ratten gescand. Het gebruik van proefdieren in dit onderzoek is nodig omdat gedrag en ingewikkelde systemen zoals het brein onder invloed van cocaïne verslaving niet op alternatieve manieren (celkweek, computer systemen etc.) getest kan worden.

Bij onderzoek naar beloning en motivatie, eetstoornissen en verslaving wordt gebruik gemaakt van modellen waarin ratten worden getraind om op een pedaal te drukken voor (lekker) eten, alcohol of een verslavende stof. Het aantal keer dat het dier op het pedaal drukt, wordt gezien als een maat voor hoe gemotiveerd de dieren zijn. Deze foto's laten een rat zien die op een pedaal drukt voor lekker eten. Nadat het dier op het linkerpedaal heeft gedrukt, gaat boven het pedaal een signaallichtje branden, dat aangeeft dat de beloning beschikbaar is.
De rat gaat vervolgens het eten ophalen in de alkoof tussen de twee pedalen in.











Vergadering 10 oktober 2012

Titel studie: The effect of acute uncontrollable stress on female sexual interest and functioning.
DEC nummer: 2012.I.10.098

Het effect van een acute psychologische stressor op seksueel gedrag in vrouwtjes ratten
Achtergrond: Steeds meer studies laten zien dat seksuele disfunctie vaak voorkomt in vrouwen en dat dit een negatief effect heeft op de kwaliteit van leven van deze vrouwen. Psychologische stress, bijvoorbeeld geïnduceerd door een negatief zelfbeeld of sociale stressors, hebben een negatief effect of het seksueel functioneren en de vruchtbaarheid van vrouwen. Acute stress lijkt via het stresssysteem in het brein invloed uit te oefenen op de neurobiologische systemen die het seksueel functioneren in vrouwen reguleren. Hoe stress precies leidt tot verminderd seksueel functioneren is echter nog onbekend. Binnen deze studie willen wij een milde stress procedure opzetten die het seksueel functioneren van vrouwtjes ratten vermindert. In de toekomst kunnen wij hiermee de neurobiologische mechanismen die ten grondslag liggen aan stress-geïnduceerde inhibitie van seksueel functioneren onderzoeken. Hiernaast zou deze milde stress procedure in de toekomst ook kunnen gaan dienen als een valide diermodel voor vrouwelijke seksuele disfunctie.
Doel/hypothese: Het doel van deze pilot studie is een milde acute stress procedure op te zetten die seksuele interesse en functioneren in vrouwtjes ratten vermindert.
Globale aanpak vraagstelling: Voor dit experiment worden twee experimentele groepen met elkaar vergeleken: 1 niet-stress controle groep en 1 groep die blootgesteld wordt aan milde stress (5 milde voetschokjes). Direct na deze milde stress procedure wordt de seksuele interesse en het seksueel functioneren van deze vrouwtjes ratten vergeleken in twee verschillende testen: (1) De seksuele motivatie test, waarin de interesse van vrouwtjes ratten voor een seksueel actief mannetje wordt vergeleken met een niet seksueel actief mannetje. (2) De paced mating test, een test waarin de vrouwtjes rat zelf de mate van seksuele interactie met een mannetjes rat kan bepalen.

Titel studie: Klaring van adeno-geassocieerd virus in de rat
DEC nummer: 2012.I.10.099

Klaring van adeno-geassocieerd virus in de rat
Achtergrond: Eetstoornissen (bv. anorexia) en obesitas vormen een groot probleem, vooral door de psychologische (bv. ontwikkelen van depressie, dwang of angststoornissen) en lichamelijke gevolgen (bv. grotere kans op diabetes II of hart en vaatziekten).
Doel/hypothese: Het is grotendeels onbekend hoe biologische en genetische factoren bijdragen aan het ontwikkelen van eetstoornissen en obesitas. Door lokaal in het brein genen aan of uit te zetten (genexpressie) kunnen we bepalen hoe lichaamsgewicht en voedselinname geregeld worden. Het virus (AAV) waarmee het uitzetten van genen wordt bewerkstelligt blijkt te kunnen resulteren in hersenschade, waardoor we op zoek moeten naar alternatieven. Deze kunnen gevonden worden in het gebruik van andere AAV vectoren of serotypes. Van de serotypes is echter nog niet de besmettingsduur bekend. Wij willen daarom een beeld krijgen van de duur van eventueel besmettingsgevaar na injectie van deze serotypes in de hersenen en van de klaring van deze serotypes uit het bloed.
Globale aanpak vraagstelling: Dieren krijgen een injectie met virus in ofwel het brein ofwel de staartvene, waarna gekeken wordt naar de hoeveelheid virus dat teruggevonden kan worden in het bloed middels bloedafname uit de staart op meerdere tijdstippen. Hiermee krijgen we een beeld van de maatregelen die getroffen moeten worden na injectie met de virussen om besmetting te voorkomen.

Titel studie: Sociaal verlies met stimulatie-geïnduceerde agressie om langdurig anhedonie te induceren als diermodel voor depressie
DEC nummer: 2012.I.10.100

Het opzetten van een diermodel voor anhedonie in ratten
Achtergrond: Veel antidepressiva werken niet goed, vooral mensen met anhedonie (het verlies van plezier, kernsymptoom van depressie) reageren niet goed op antidepressiva. Enerzijds weten we niet goed hoe antidepressiva werken, anderzijds weten we niet goed welke hersenmechanismen betrokken zijn bij anhedonie. Goede diermodellen waar anhedonie in bestudeerd kan worden zijn er nauwelijks.
Doel/hypothese: Wij willen langdurig anhedonie induceren in een dier om zo beter anhedonie te kunnen bestuderen in de hersenen.
Globale aanpak vraagstelling: Dit willen we doen door een sociaal verlies model op te zetten. Een verliezer word in de kooi van een dominante rat geplaatst. We zullen dan het hersengebied dat betrokken is bij agressie stimuleren bij de dominante rat, waardoor de verliezer zal worden aangevallen. In deze verliezers zullen we de gevoeligheid van het beloningssysteem in de hersenen meten, wat een maat is voor anhedonie. Door het verliesmodel op deze manier op te zetten zullen er minder dieren nodig zijn.

Titel studie: Effects of nutritional intervention on a PD mouse model induced with pesticide rotenone
DEC nummer: 2012.I.10.102

Onderzoek naar het effect van verschillende voedsel behandelingen in een muismodel met de ziekte van Parkinson (PD)
Achtergrond: De ziekte van Parkinson (PD) is een ziekte die gekenmerkt wordt door stoornissen in het bewegingsapparaat (traagheid, verminderd bewegen, stijfheid en beven). Echter, PD patiënten ondervinden talrijke andere symptomen (zoals waarnemings-, slaap-, psychiatrische problemen en bovenal problemen aan het spijsverteringskanaal) alvorens de stoornissen in het bewegingsapparaat optreden. Deze “non-motorische” symptomen staan op dit moment centraal binnen onderzoek naar de oorzaak van PD. In voorgaande experimenten hebben we aangetoond dat ons muismodel met PD zowel de stoornissen vertoond van het bewegingsapparaat alsook van het spijsverteringskanaal. Er is uitgebreid onderzoek gedaan naar de positieve effecten van voedingscomponenten bij hersenziektes. Wij zijn ervan overtuigd dat behandeling van ons PD-muismodel met bepaalde voedingscomponenten zal leiden tot vermindering van de stoornissen in het bewegingsapparaat en het spijsverteringskanaal.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om ontstekingen en afbraak van hersencellen in kaart te brengen, dat optreedt na induceren van PD in de muizen. Daarnaast willen we meer te weten komen over de veranderingen binnen het spijsverteringskanaal. Er wordt verwacht dat de behandeling met voedingscomponenten zal leiden tot vermindering van de stoornissen in het bewegingsapparaat en het spijsverteringskanaal.
Globale aanpak vraagstelling: Het diermodel wordt geïnduceerd door toediening van rotenone in het brein. Rotenone is een toxische stof (een pesticide) die aangrijpt in een proces dat ook bij de ziekte verstoord is. Bovendien hebben epidemiologische studies een correlatie laten zien tussen blootstelling aan dit pesticide en het risico op het krijgen van PD. Het is eerder aangetoond dat infusie van rotenone in het brein de symptomen van het bewegingsapparaat kan veroorzaken. We gaan in deze aanvraag ook non-motorische symptomen van de ziekte onderzoeken.

Titel studie: DREADD expression and activity in TH-Cre rats
DEC nummer: 2012.I.10.103

Ontrafelen van de rol van dopamine en noradraline bij psychiatrische aandoeningen en eetstoornissen
Achtergrond: Veel medicijnen voor psychiatrische aandoeningen werken op het dopamine en noradrenaline systeem. Toch is niet bekend wat de precieze rol is van dopamine en noradrenaline bij gestoord gedrag maar ook niet bij bijvoorbeeld eetgedrag. Wij stellen in dit onderzoek voor genetisch gemodificeerde ratten te gebruiken, waarin de veranderingen die men vermoedt dat ze plaatsvinden bij bijvoorbeeld ADHD, psychose of obesitas kunnen worden nagebootst. In dit deelonderzoek kijken we naar de effecten van het specifiek inhiberen of activeren van dopamine- en noradrenaline-Producerende hersencellen.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is de rol van dopamine en noradrenaline bij (eet)gedrag en de werking van psychofarmaca beter te begrijpen.
Globale aanpak vraagstelling: De dieren zullen een injectie krijgen met een niet-pathogeen gerecombineerd virus (AAV) dat er voor zorgt dat dopaminerge of noradrenerge neuronen wat betreft hun activiteit onder controle komen te staan van een farmacon dat dan alleen die neuronen kan activeren. Op verschillende tijdstippen na injectie wordt er gekeken naar de expressie van het virus. Ook wordt er gekeken naar het effect op hersenactiviteit in verschillende gebieden na toediening van verschillende doses van het farmacon. Dit onderzoek is alleen mogelijk in proefdieren omdat alleen in een intact organisme een dergelijk virus tot expressie kunnen worden gebracht en vervolgens door activatie een effect op verdere hersenactiviteit kunnen hebben.

Titel studie: Mappig of female mouse chromosome 19 QTLs for experimental behaviour, with special reference to anxiety-related behaviour
DEC nummer: 2012.I.10.104

Het identificeren van 'angst-genen' op muis chromosoom 19 door gebruik te maken van een kruising tussen een angstige en een niet-angstige consome lijn
Achtergrond: Consome lijnen zijn inteeltstammen waarbij één chromosoom van de ene inteeltstam (donorstam) is ingekruist in de genetische achtergrond van een andere inteeltstam (gastheerstam). Uit eerder onderzoek is gebleken dat chromosoom 19 van de muis segmenten bevat waar angst-genen zetelen, maar waar precies is nog niet duidelijk. Wij willen een kruising maken tussen een angstige (gastheer C57BL/6J, donor A/J) en een niet-angstige (gastheer C57BL/6J, donor PWD/Ph) chromosoom 19 consome lijn en vervolgens het gedrag van de nakomelingen onderzoeken als ook de erfelijke informatie van de dieren bestuderen. Hieruit zijn de segmenten op muis chromosoom 19 die met angst te maken hebben te identificeren.
Doel/hypothese: Het project richt zich op het identificeren van stukjes erfelijke informatie op muis chromosoom 19, welke betrokken zijn bij inteeltstamverschillen in gedrag dat in relatie gebracht wordt met angst bij laboratorium-muizen. Met deze kennis kunnen op termijn nieuwe mogelijkheden ontdekt worden ter voorkoming en genezing van angststoornissen bij mens en huisdier.
Globale aanpak vraagstelling: Bij de nakomelingen van een kruising tussen de twee bovengenoemde consome lijnen willen wij angst-gerelateerd gedrag meten door middel van vier testen ('modified hole board', 'light-dark box', 'elevated plus maze' en de 'open field' test). Wanneer de erfelijke informatie van de dieren bekend is, is deze informatie te relateren aan de uitkomsten van de gedragstesten. Op deze manier is een specifieke genetische achtergrond te koppelen aan angstig gedrag en zo kunnen we bepaalde chromosoomsegmenten identificeren als 'angst-gebieden'. Door vorige resultaten er bij te betrekken zullen we in staat zijn deze segmenten te verkleinen en zelfs nieuwe, nog niet eerder bekende 'angst-genen te identificeren.

Vergadering 7 november 2012

Titel studie: Prepareren en aanhouden van dieren t.b.v. het maken van GG-muismodellen, cryopreservatie en sanering
DEC nummer: 2012.I.11.105

Prepareren en aanhouden van dieren t.b.v. het maken van GG-muismodellen, cryopreservatie en sanering
Achtergrond: De generatie van genetisch gemodificeerde organismen (in dit geval muizen) is van groot belang voor onderzoek naar aandoeningen in mens en dier. In de gebruikte muismodellen (knock-outs, knock-ins of transgenen) kan een situatie in vivo worden nagebootst die nagenoeg identiek is aan de te onderzoeken aandoening. Op deze manier wordt inzicht verkregen in de genetische component verantwoordelijk voor de bestudeerde aandoening.
Doel/hypothese: Doel van deze aanvraag is genoemde categorieën dieren op voorraad beschikbaar te kunnen houden voor (her)gebruik van de dieren t.b.v. de genoemde activiteiten en voor het optimaliseren van technieken. Genoemde activiteiten zijn standaard technieken in het GDL.
Globale aanpak vraagstelling: In het hier beschreven project worden muizen resp. gesaneerd, cryo-gepreserveerd en worden er genetische muismodellen gegenereerd. De hiertoe gebruikte technieken behoren tot het standaard instrumentarium van het GDL te Utrecht.

Titel studie: De functie van PTEN in het dopaminerge circuit
DEC nummer: 2012.I.11.106

De functie van het eiwit PTEN in het dopaminerge systeem
Achtergrond: Autisme is een ernstige neuropsychiatrische aandoening. Genetisch onderzoek in patiënten heeft aangetoond dat het eiwit PTEN een rol speelt in de ontwikkeling en het ziektebeeld van autisme. Daarnaast heeft onderzoek ook uitgewezen dat de neurotransmitter dopamine van belang kan zijn in de ontwikkeling van autisme. De hersengebieden waarin dopamine voorkomt en de communicatie tussen hersengebieden die met behulp van het stofje dopamine plaatsvindt, zijn uitvoerig onderzocht en een goede basis is beschreven. De functie van het eiwit PTEN binnen dit systeem is echter onbekend. Onderzoek naar de functie van PTEN in deze specifieke hersengebieden zal dus bijdragen aan inzicht in de neurobiologie die ten grondslag kan liggen aan autisme en opent de mogelijkheid tot betere diagnose en behandeling.
Doel/hypothese: Dit onderzoek zal inzicht geven in de rol van een autisme risico gen (PTEN) in de ontwikkeling van een specifiek, met autisme geassocieerd, hersengebied.
Globale aanpak vraagstelling: Na het aantonen van verschillende processen en eventuele functies van het geselecteerde eiwit in celkweek, zullen resultaten moeten worden bevestigd in natuurlijk ontwikkelende hersenen. Hiervoor zullen muizen worden gebruikt. Vanaf een vroeg moment in de ontwikkeling zal het eiwit PTEN worden weggenomen in een specifiek hersengebied. Muizen zullen in verschillende stadia van de ontwikkeling op een snelle, pijnloze manier worden geeuthanaseerd en de hersenen zullen worden verwijderd. Biologische processen en hersenstructuren zullen worden onderzocht, bijv. door het aankleuren van eiwitten in dun gesneden hersenplakken van de muis. De muislijnen waarin een bepaald eiwit in een bepaald hersengebied weggenomen kan worden, zijn zeer waardevol in het onderzoeken van de functie van dat eiwit in de ontwikkeling van de hersenen en in het ontstaan van autisme.

Titel studie: Gedragsstudies in een muislijn met gemuteerd autisme-risico-gen
DEC nummer: 2012.I.11.107

Gedragsstudies in een muislijn met gemuteerd autisme-gen
Achtergrond: Autisme is een ernstige neuropsychiatrische aandoening, die gekenmerkt wordt door problemen in sociale en communicatieve vaardigheden en repetitieve gedragingen. Afgelopen maanden hebben wij ons verdiept in de neurobiologische werking van een specifiek autisme-gen. De resultaten hiervan, in combinatie met andere bevindingen binnen ons instituut, hebben geleid tot de hypothese dat muizen waarin dit specifieke gen uitgeschakeld is stoornissen zullen vertonen op sociaal vlak. De voorgestelde experimenten zijn bijzonder geschikt om sociaal gedrag en sociaal geheugen van muizen te testen en te vergelijken met andere vaardigheden, zoals het herkennen van objecten.
Doel/hypothese: De voorgestelde experimenten zullen ons inzicht geven in de relatie tussen dit autisme-gen en eventuele gedragsstoornissen. Nu binnen onze onderzoeksgroep ook steeds meer bekend is over de neurobiologische werking van het eiwit, kunnen deze gedragsstudies de link leggen tussen neurobiologie, morfologische studies en gedrag.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen - met en zonder het specifieke eiwit - zullen worden getest op de mate van interactie met onbekende soortgenoten en hun bekwaamheid in het herkennen van muizen die ze al eerder hebben ontmoet. Dit zal worden vergeleken met zowel interactie als met herkenning van nieuwe en bekende objecten. Voor dergelijk onderzoek zijn muislijnen waarin een specifiek gen uitgeschakeld is van groot belang. Verschillen tussen de muizen kunnen direct toegewezen worden aan het genetische verschil en gekoppeld worden aan de neurobiologische processen die mislopen in afwezigheid van het bepaalde eiwit.

Titel studie: Identificatie van microRNAs en hun target eiwitten die de ontwikkeling van het zenuwstelsel reguleren
DEC nummer: 2012.I.11.109

Identificatie van miRNAs en hun targets die effect hebben op de ontwikkeling van het zenuwstelsel
Achtergrond: microRNAs zijn kleine moleculen die de hoeveelheid van specifieke eiwitten die er in een cel zitten reguleren en daardoor mede de identiteit van cellen bepalen. Ze hebben specifieke target-eiwitten waardoor ze een mooie basis vormen voor nieuwe therapeutische mogelijkheden. Veel van deze microRNAs hebben waarschijnlijk een functie in de ontwikkeling van het brein, omdat ze al heel vroeg tijdens de embryonale ontwikkeling te detecteren zijn. Welke processen specifieke sets van microRNAs reguleren is niet bekend. Om de ontwikkeling van het brein beter te leren begrijpen is het belangrijk hier meer over te weten. Dit kan in de toekomst gebruikt worden om kleine veranderingen in de ontwikkeling, die bijvoorbeeld autisme en schizofrenie kunnen veroorzaken, te bestrijden.
Doel/hypothese: Het doel van dit project is inzicht te verschaffen in werking van microRNAs en hun target eiwitten die betrokken zijn bij de ontwikkeling van het zenuwstelsel. We willen kijken wat het effect is op bijvoorbeeld neuriet uitgroei en migratie van zenuwcellen.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie willen we kijken naar de rol die microRNAs spelen tijdens de vroege ontwikkeling van zenuwcellen. We willen kijken naar complexe groeiprocessen in hersenstructuren en dit is alleen mogelijk door het gebruik van proefdiermodellen zoals die in deze aanvraag beschreven zijn. We willen muizen van drie verschillende lijnen voor de experimenten gebruiken. In het eerste deel van het experiment willen we zenuwcellen van jonge, pasgeboren muizen kweken. Daartoe worden muizen tot één dag na de geboorte bij de moeder weggehaald en gedood. Een hersenstructuur wordt geïsoleerd en als losse cellen gekweekt. De ontwikkeling van deze zenuwcellen in kweekbakjes zal worden gevolgd en het effect van microRNAs en hun targeteiwitten daarop, zal worden onderzocht. In het tweede deel van het experiment willen we de ontwikkeling van zenuwcellen in hun normale omgeving, onder invloed van microRNAs bekijken door middel van in utero elektroporatie. Hierbij worden zwangere muizen geopereerd, waarbij de embryo's direct in hun hersenen worden geïnjecteerd met microRNA en dit wordt door middel van een elektrische

puls in de hersencellen gebracht. Vervolgens wordt de moeder gehecht en komt bij van de operatie. De ontwikkeling van de embryonale breintjes gaat door na deze interventie, waardoor we na een paar dagen, als we de moedermuis doden en de embryo's oogsten, het effect van de microRNAs kunnen zien op bijvoorbeeld migratie van zenuwcellen en de uitgroei van zenuwuitlopers. In het derde deel van het onderzoek beschrijven we een experiment wat voorafgaat aan het tweede deel van het onderzoek. Bij ex vivo elektroporatie gebeurt de injectie van microRNA nadat de zwangere muis is gedood en de embryo's zijn geoogst. De breintjes van de embryo's worden vervolgens in plakjes gesneden en een aantal dagen gekweekt. Ook hier kunnen we migratie van zenuwcellen en de uitgroei van zenuwuitlopers bekijken. Deze techniek zal ons relatief snel inzicht geven in het effect van microRNAs en hun targeteiwitten op grove ontwikkelingsparameters. Dit geeft een essentiële basis voor de experimenten beschreven in het tweede deel, die in uitvoer vele malen complexer is. Echter, de ontwikkeling in een intact brein geeft uiteindelijk de doorslag, omdat hier complexe processen plaatsvinden die in kweekbakjes verloren gaan.

Titel studie: Safety of argon inhalation for neuroprotection in a piglet model for perinatal hypoxic-ischemia
DEC nummer: 2012.I.11.110

Veiligheid van inhalatie van Argon ter reductie van hersenschade door zuurstoftekort rondom de geboorte
Achtergrond: Enkele honderden pasgeboren kinderen krijgen te maken met hersenschade door zuurstofgebrek bij de geboorte. Circa één derde hiervan overlijdt en ongeveer 10% krijgt ernstige afwijkingen zoals epilepsie, verstandelijke beperkingen of motorische handicaps (infantiele encefalopathie). Hoewel het tijdelijk koelen van deze kinderen gunstige effecten heeft, zijn er nog veel kinderen met restafwijkingen. Uit onderzoek bij ratten is gebleken dat inhalatietherapie met het edelgas Argon hersencellen beschermt na zuurstoftekort. In deze studie hopen wij aan te tonen in een diermodel dat inhalatie van Argon geen nadelige effecten heeft. Indien Argon veilig blijkt, kan worden voortgegaan met studies naar de veiligheid en effectiviteit bij pasgeboren kinderen.
Doel/hypothese: Aantonen dat inhalatie van Argon geen nadelige effecten heeft op de belangrijkste lichaamsfuncties in een model voor zuurstoftekort bij pasgeborenen, in biggen, in combinatie met standaardtherapie (milde koeling).
Globale aanpak vraagstelling: Het voorgenoemde model in biggen komt het dichtst in de buurt van een voldragen pasgeboren baby. Voordat onderzoek bij de mens wordt gestart willen we zeker weten dat er geen nadelige effecten optreden door beademing met Argon. Er wordt gekeken naar effecten op de hartslag, de hoeveelheid zuurstof in het bloed en de hersenen, en hersenactiviteit. Dit wordt eerst gedaan bij gezonde biggen, ten opzichte van 'baseline' en vervolgens bij biggen die een zuurstoftekort hebben ondergaan, in combinatie met de standaard therapie (milde koeling). Gedurende het gehele experiment zijn de dieren onder narcose, waaruit ze niet zullen worden gewaakt.

Titel studie: Testing operant set shifting task for mice using the PhenoTyper home cage system
DEC nummer: 2012.I.11.111

Het ontwikkelen van een nieuwe, verfijnde, methode voor het testen van cognitieve rigiditeit in muizen
Achtergrond: Problemen met het aanpassen van gedrag aan veranderingen, i.e. cognitieve rigiditeit, wordt gezien als een kernprobleem bij verschillende psychiatrische aandoeningen. Preklinische studies bij dieren dienen om te onderzoeken wat precies de neurobiologische oorzaken zijn van de cognitieve rigiditeit bij deze patiënten.
Doel/hypothese: In deze studie zal een nieuwe methode worden ontwikkeld waarbij muizen in een stress-vrije omgeving worden getest op hun mate van cognitieve rigiditeit, zonder dat hiervoor voedselrestrictie noodzakelijk is.
Globale aanpak vraagstelling: De dieren worden gedurende één week gehuisvest in een speciale testomgeving, waar zij de gelegenheid krijgen om een leertaak uit te voeren waarbij zij voedselbeloningen kunnen verdienen. Uit de prestatie van de dieren op deze taak kan worden opgemaakt welke mate van cognitieve rigiditeit zij vertonen.

Titel studie: Testing the role of the mGluR5 receptor on repetitive self- cognitive rigidity in BTBR T+tf/J and C57BL/6J mice
DEC nummer: 2012.I.11.112

Het onderzoeken van neurobiologische oorzaken voor het ontwikkelen van afwijkend gedrag in een muismodel voor autisme

Achtergrond: Problemen met het aanpassen van gedrag aan veranderingen, i.e. cognitieve rigiditeit, wordt gezien als een kernprobleem bij verschillende psychiatrische aandoeningen. Preklinische studies bij dieren dienen om te onderzoeken wat precies de neurobiologische oorzaken zijn van de cognitieve rigiditeit bij deze patiënten.
Doel/hypothese: In deze studie wordt het effect van een bepaalde drug (GRN-529) op het afwijkende gedrag onderzocht in een muismodel voor autisme.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden behandeld met de drug en vervolgens wordt hun gedrag geobserveerd in verschillende gedragstesten zoals, sociale herkenning en cognitieve flexibiliteit en deze resultaten worden vergeleken met die van muizen die geen drug hebben gekregen. De dieren worden aan het eind van het experiment geëuthanaseerd voor verder anatomisch onderzoek.

Titel studie: Measuring polyunsaturated fatty acids during the development of mice and the relation between these fatty acid concentrations and the behavior of the mice
DEC nummer: 2012.I.11.113

De concentraties van meervoudig onverzadigde vetzuren in het bloed tijdens de ontwikkeling van verschillende muissoorten en de relatie tussen deze vetzuren en het gedrag relevant voor autisme

Achtergrond: Recente studies hebben aangetoond dat er een exponentiële toename is van de diagnose autisme in de laatste 40 jaar. Dit kan echter niet volledig verklaard worden door genetische factoren, een grotere bekendheid van de ziekte of de veranderde diagnostische criteria. Omgevingsfactoren zijn daardoor ook mogelijke oorzaken. Voeding is daar een van, sinds de veranderingen in vetzuursamenstelling in het dieet in de laatste eeuw parallel loopt met de toename in autisme prevalentie. Dit is een indicatie dat voeding een belangrijke factor is in de hersenontwikkeling. Meervoudig onverzadigde vetzuren staan beter bekend als omega-3 en omega-6. De balans tussen omega-6 en omega-3 (n-6/n-3) is hierbij het belangrijkste. Het dieet is in de afgelopen 100 jaar sterk veranderd. Niet alleen door de opkomst van de industrie, maar ook door de ontdekking dat cholesterol slecht is voor het hart. Cholesterol werd daardoor vervangen door plantaardige (omega-6) vetten en de kans op hartziekten zou hierdoor afnemen. Door de introductie van deze plantaardige vetten wordt dit echter steeds meer gebruikt in de voedingsindustrie. Het gevolg hiervan is dat er steeds meer omega-6 wordt ingenomen en de balans n-6/n-3 is verstoord; er ontstaat een groot tekort aan omega-3 vetzuren. Door de huidige levensstijl van kant-en-klaar maaltijden, fastfood en minder verse producten wordt deze balans nog verder verstoord. Het is bekend dat een tekort in omega-3 in muizen gedrags- en ontwikkelingsproblemen kan veroorzaken. Het veranderen van het dieet van muizen, door toevoeging of verwijdering van omega-3, zal hopelijk meer informatie kunnen geven over de invloed van meervoudig onverzadigde vetzuren op het autisme gerelateerde gedrag van deze muizen.
Doel/hypothese: 1. De invloed van deze meervoudig onverzadigde vetzuren op het gedrag wordt hier onderzocht. In een testbatterij door het hele leven van de muis worden de muizen getest op verschillende leeftijden (4, 6, 8, 10 en 12 weken oud) waarbij er een verandering is opgetreden in het dieet (toevoeging van extra omega-3). Door het gebruik van verschillende muizen met verschillende autistische kenmerken kunnen de eventuele veranderingen van vetzuur concentraties in het dieet gerelateerd worden aan de veranderingen in gedrag relevant voor autisme. 2. De invloed van meervoudig onverzadigde vetzuren op het gedrag van muizen wordt ook nog onderzocht door het verminderen van omega-3 in het dieet van muizen (omega-6 toevoegen aan het dieet zal omega-3 verminderen). Hierdoor kunnen veranderingen van vetzuur concentraties in het dieet gerelateerd worden aan veranderingen in gedrag relevant voor autisme.

Globale aanpak vraagstelling: Het bloed van muizen zal getest worden op de leeftijden van 4, 6, 8, 10 en 12 weken. Deze leeftijden zijn gekozen op basis van de testbatterij die gebruikt wordt, waarbij het gedragsonderzoek gedaan zal worden op dezelfde leeftijden (Vanaf 10 weken oud gebeuren er elke week testen). De vetzuur concentraties kunnen gerelateerd worden aan het (afwijkend) gedrag dat op die leeftijd wordt vertoond. Het gebruik van proefdieren (muizen) is hier noodzakelijk, aangezien gedragstesten nog niet op een ander model (computermodel, cellen) uitgevoerd kunnen worden. Tevens gebeurt bloedafname ook enkel vanuit het proefdier, omdat dit de actuele status van de vetzuurconcentraties in het lichaam weergeeft. Dit maakt het mogelijk om het te relateren aan de gedragsresultaten.

Titel studie: The role of GRK2/Epac1 ratio in chronic inflammatory hyperalgesia
DEC nummer: 2012.I.11.114

De rol van GRK2/Epac1 in ontstekingspijn
Achtergrond: Een aanzienlijk deel van de patiënten ontwikkelt chronische pijn na een ontsteking. Deze vorm van chronische pijn is moeilijk te behandelen, vooral omdat niet bekend is wat de onderliggende mechanismen zijn. Uit eerder onderzoek is gebleken dat het molecuul GRK2 en Epac1 een belangrijke rol spelen bij het chronisch maken van een normaal tijdelijke ontstekingspijn.
Doel/hypothese: Wij willen nu testen of het veranderen van deze eiwitten (GRK2 and Epac1) in zenuwcellen chronisch ontstekingspijn kan dempen.
Globale aanpak vraagstelling: Veranderingen in pijngevoeligheid is het resultaat van complexe veranderingen op de plek waar de ontsteking plaatsvindt en daar waar de pijnprikkel worden gedetecteerd en waar ze verder worden verwerkt. De rol van specifieke eiwitten in pijnmodulatie kan daarom enkel en alleen in intacte proefdieren worden gedaan. Muizen zullen een ontstekingsprikkel in de poot krijgen die zorgt voor overgevoeligheid voor aanraking en/of warmte prikkels. Dit is een veelgebruikt modelsysteem om de mechanismen van chronische pijn te onderzoeken. In deze studie gaan we na of experimenteel aangebrachte verandering in de hoeveelheid van het eiwit de chronische pijn kan genezen.

Titel studie: De rol van MICAL-eiwitten in de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan de ontwikkeling van neuronale netwerken
DEC nummer: 2012.I.11.115

De rol van MICAL-eiwitten in de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan de ontwikkeling van neuronale netwerken
Achtergrond: Dit onderzoek richt zich op de functie van signaal eiwitten die belangrijk zijn voor de ontwikkeling van hersenbanen in het hersengebied wat belangrijk is voor leren en geheugen. Er wordt gedacht dat ontwikkelingsdefecten in dit hersengebied de oorzaak zijn van gedragsstoornissen als autisme en schizofrenie. Bij een muis die het MICAL eiwit mist zien we zo'n ontwikkelingsdefect. We willen weten hoe dit defect tot stand komt. De kennis die hierbij wordt vergaard is erop gericht (gedrags-)stoornissen als gevolg van een verstoorde ontwikkeling van hersenbanen te bestrijden.
Doel/hypothese: Het doel van dit project is inzicht te verschaffen in de moleculaire werking van MICAL eiwitten, met name in de vorming van de hersenstructuur, die belangrijk is voor leren en geheugen. Muizen die dit MICAL eiwit missen hebben een afwijking in dit gebied. We willen weten hoe dit defect tot stand komt en welke andere eiwitten hierbij betrokken zijn.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie willen we kijken naar de eiwitten die belangrijk zijn om de juiste hersenbanen te vormen in de hersenstructuur die belangrijk is voor leren en geheugen. We gebruiken een muizenstam die het MICAL eiwit mist, waardoor deze specifieke banen misvormd zijn. Deze hersenbanen ontwikkelen zich in muizen ongeveer tussen dag 5 en dag 20 na de geboorte. We zullen pups van 7-9 dagen oud doden en hun hersenen gebruiken om hersenplakjes van deze hersenstructuur te maken. Deze plakjes gebruiken we om zenuwcellen, ook afkomstig uit deze

pups, op te laten groeien om te onderzoeken hoe dit proces verloopt en wat het verschil is tussen de aan- en afwezigheid van MICAL eiwitten. Omdat we complexe interacties van cellen en hun omgeving willen bestuderen, hebben we hersenmateriaal van proefdieren nodig.

Titel studie: Local drug delivery for stimulation of vascular/neuronal remodeling to improve recovery after ischemic stroke
DEC nummer: 2012.I.11.116

Vaatontwikkeling en -herstel na een bloedeloze beroerte in beeld te brengen
Achtergrond: Bij een bloedeloze beroerte, wordt de toevoer van bloed naar een gedeelte van de hersenen afgesloten, vaak door een bloedpropje of andere gevolgen van aderverkalking. Een gedeelte van het brein sterft af, maar er is ook een gebied dat tijdelijk wordt uitgeschakeld, maar wel levensvatbaar blijft. Men vermoedt dat dit weefsel haar herstel gedeeltelijk dankt aan een natuurlijk proces waarbij bloedvaten groeien die te weinig zuurstof krijgen. Bij deze studie willen we kijken of we deze groei van vaten kunnen stimuleren en in beeld kunnen brengen door middel van het gebruik van MRI. Hiermee kunnen ook nieuwe therapieën, gericht op de vorming van nieuwe vaten, gemeten worden.
Doel/hypothese: Ons doel is om de vorming en functionaliteit van nieuwe vaten na een beroerte te stimuleren en m.b.v. nieuwe MRI methoden te karakteriseren.
Globale aanpak vraagstelling: Angiogenese na een beroerte is een recentelijk aangetoond en onopgehelderd fenomeen. Om hier meer inzicht in te krijgen zullen wij m.b.v. MRI scans bij ratten metingen en histologie op weefsel verschillende vasculaire parameters meten in een rattenmodel voor beroerte.
In totaal worden twaalf groepen vergeleken met combinaties van twee verschillende medicijnen die groei van bloedvaten stimuleren en toediening daarvan op twee verschillende momenten. Daarmee willen we uitzoeken wat de invloed van beide medicijnen en verschillende momenten van toediening is. Ratten worden vaak gebruikt in beroerte onderzoek. Ze zijn zeer geschikt voor hoog veld MRI onderzoek en de hersenstructuren zijn goed gedocumenteerd. Middels gedragsproeven zijn neurologische afwijkingen goed aan te tonen. Verder hebben we levende ratten nodig om de groei van bloedvaten te meten.

Titel studie: The role of Fzd3 during striatal pathways development
DEC nummer: 2012.I.11.117

De rol van Fzd3 tijdens striatale zenuwbanen ontwikkeling
Achtergrond: De ontwikkeling van zenuwbanen wordt gereguleerd door moleculaire factoren genaamd 'axon guidance eiwitten'. Deze eiwitten zorgen er voor dat zenuwbanen op de juiste plek worden aangelegd en het juiste doelwitgebied, bv. een ander hersengebied of een spier, wordt bereikt door specifieke zenuwen. De kennis die met het beschreven onderzoek wordt opgedaan is uiteindelijk gericht op actieve bestrijding van aandoeningen die in verband worden gebracht met afwijkingen in de ontwikkeling van de hersenen, zoals schizofrenie en autisme. Kennis van de ontwikkeling van zenuwbanen zal inzicht verschaffen in de pathologie van deze aandoeningen en bijdragen aan de ontwikkeling van therapieën .
Doel/hypothese: Het ontbreken van bepaalde Frizzleds kan leiden tot defecten in de formatie van zenuwbanen. Het doel van dit project is om inzicht te verschaffen in de moleculaire werking van Frizzleds in de vorming van zenuwbanen tijdens de ontwikkeling.
Globale aanpak vraagstelling: In de muis wordt gekeken op welke wijze de connecties tussen de striatum en het dopaminerge midbrein ontstaan en de rol van Frizzled3 daarin. Dit zal gedaan worden d.m.v. immunohistochemische kleuringen

die deze banen en moleculen zichtbaar maken in Frizzled3 knockout en wildtype muizen. Verder zullen zenuwcellen uit het striatum worden gekweekt van knockout en wildtype dieren om naar de uitgroei van zenuwvezels te kijken. Vanwege de complexiteit van dit systeem zijn cellijnen ongeschikt.

Titel studie: The role of leptin signaling in feeding behavior
DEC nummer: 2012.I.11.118

Ontrafelen van de rol van dopamine op de leptine signalering bij eetstoornissen
Achtergrond: Leptine, een hormoon dat vrijgegeven wordt uit vetweefsel, werkt onder andere op het dopamine systeem (betrokken bij het beloningssysteem). Toch is niet bekend wat de precieze rol van dopamine is bij gestoorde leptine gevoeligheid tijdens bijvoorbeeld een vet en suikerrijk dieet. Van mensen met obesitas is bekend dat zij vaak leptine ongevoelig zijn. Met dit onderzoek willen wij de rol van dopamine hierbij onderzoeken. Hiervoor is er een diermodel ontwikkeld waarbij heel specifiek de dopamine neuronen geactiveerd of geïnhibeerd kunnen worden. Dit heet de DREADDs technologie en hiervoor gebruiken wij ratten die een bepaald enzym hebben op de dopamine neuronen. Hierdoor kunnen met designer drug (CNO) de dopamine neuronen gemanipuleerd worden.
Doel/hypothese: Het doel van het voorgestelde onderzoek is verder te ontrafelen wat de rol van dopamine is op de regulatie van leptine signalering bij eetgedrag. Door middel van manipulatie van het dopamine systeem hopen wij meer inzicht te krijgen in de rol van leptine en leptine gevoeligheid.
Globale aanpak vraagstelling: Wij gebruiken TH-CRE ratten, omdat we kijken naar eetgedrag en dit kan niet anders dan in een intact organisme. Voor dit onderzoek krijgen de ratten in een hersengebied virus ingespoten waardoor de neuronen geactiveerd of geïnhibeerd kunnen worden. Nadat ze van de operatie hersteld zijn krijgen ze een injectie met leptine en kijken we naar de voedselinname, dit is een maat voor leptine gevoeligheid. Daarna gaan de dieren op een vet en suikerrijk dieet, waardoor ze dik worden. Na 4 weken dieet krijgen ze nog een keer een injectie met leptine en wordt er weer naar de voedselinname gekeken. Dan halen we het dieet weg, om te zien of de ongevoeligheid die tijdens het dieet waarschijnlijk ontstaat ook omkeerbaar is. Aan het eind van het experiment worden de ratten gedood en wordt er gekeken naar de hersenen, het bloed en de vetweefsels. Gedurende het hele experiment wordt het welzijn van de ratten nauwkeurig in de gaten gehouden.

Titel studie: Effect of treatment with mifepristone after early life stress
DEC nummer: 2012.I.11.119

De invloed van moederzorg op de structurele en functionele ontwikkeling van de hersenen
Achtergrond: Epidemiologische studies suggereren een relatie tussen negatieve gebeurtenissen gedurende de vroege (postnatale) periode en een toegenomen risico op lichamelijke en psychiatrische aandoeningen op volwassen leeftijd. Er zijn sterke aanwijzingen dat stressvolle gebeurtenissen in het vroege leven en een verhoogde blootstelling aan glucocorticoïden (stresshormonen) ten grondslag ligt aan deze relatie. Gedragsstudies laten zien dat het scheiden van moeder en pups op jonge leeftijd de stressgevoeligheid, cognitieve prestaties (in ruimtelijke leertaken en decision-making taken) en hersenstructuur van knaagdieren op volwassen leeftijd beïnvloedt.
Doel/hypothese: In dit project bestuderen we of deze veranderingen kunnen worden voorkomen door dieren te behandelen met een stresshormoon blokker, genaamd RU486. Door deze experimenten komen we direct te weten of de effecten van het scheiden van moeder en pups kunnen worden voorkomen.
Globale aanpak vraagstelling: De dieren zullen op 3 dagen na de geboorte voor 24 uur van de moeder worden gescheiden. Op adolescente leeftijd worden zij behandeld met een placebo of met RU486. Vervolgens wordt het effect van de behandeling op de hersenen en op de cognitieve prestaties bekeken. Deze handelingen zijn in mensen niet op deze

manier mogelijk. Deze nieuwe inzichten kunnen op termijn mogelijk therapeutische toepassing hebben. Gezien het maatschappelijke en wetenschappelijke belang van deze experimenten en het relatief geringe ongerief van de dieren vinden we de experimenten ethisch aanvaardbaar.

Vergadering 28 november 2012

Titel studie: Effect van vertraagde afgifte van risperidon en aripiprazol op prepulse inhibitie in C57bl6 muizen
DEC nummer: 2012.I.12.120

Effect van langdurige, vertraagde afgifte van geneesmiddelen op diergedrag
Achtergrond: Als geneesmiddelen worden getest in proefdieren, worden ze meestal maar 1x gegeven. Maar patiënten slikken geneesmiddelen veel langer. Om beter te kunnen onderzoeken welk effect een geneesmiddel heeft in de hersenen is het daarom beter een stof langere tijd te geven.
Doel/hypothese: Kun je door het antipsychoticum te verpakken in microsferen (kleine bolletjes), er voor zorgen dat het geneesmiddel met een injectie van de bolletjes 10 dagen werkzaam blijft in het lichaam? En is het effect dan sterker of minder sterk dan wanneer je het antipsychoticum in een keer geïnjecteerd had?
Globale aanpak vraagstelling: Muizen krijgen of de bolletjes of het gewone geneesmiddel geïnjecteerde. Vervolgens meten we 1x per week, gedurende 4 weken hoe goed ze reageren op signalen uit de omgeving. Om te onderzoeken welk effect geneesmiddelen op de hersenen hebben, hebben we proefdieren nodig. Een testopstelling in het lab kan namelijk niet alle processen in het lichaam nabootsen die betrokken zijn bij de effecten van geneesmiddelen op de hersenen.

Titel studie: Vertraagde afgifte van risperidon en aripiprazol
DEC nummer: 2012.I.12.121

Verbeterde medicatie voor geestesziekten
Achtergrond: Geneesmiddelen tegen geestesziekten hebben vaak vervelende bijwerkingen zoals slaperigheid en sufheid. Dit type bijwerkingen hangt vaak samen met de dagelijkse schommelingen in de hoeveelheid geneesmiddel in het lichaam na inname van een nieuwe tablet. Wij hebben een verbeterde toedieningsvorm ontwikkeld waaruit de actieve stof geleidelijk vrijkomt gedurende 6-8 weken. Zo'n toedieningsvorm zal heel constante geneesmiddelafgifte hebben, en maakt het mogelijk om het geneesmiddel toe te dienen zonder de hierboven genoemde bijwerkingen.
Doel/hypothese: Onderzoeken hoe snel en hoe langdurig de afgifte is van geneesmiddelen tegen geestesziekten uit een onderhuids toegediend vertraagd afgifte preparaat.
Globale aanpak vraagstelling: Gezonde ratten krijgen de medicatie toegediend via een onderhuidse injectie. Twee maal per week gedurende 2 maanden zal er een bloedmonster worden afgenomen zodat we de afgifte van het geneesmiddel aan de bloedbaan kunnen meten. De dosis die gegeven wordt is relatief laag en zal daarom goed verdragen worden door de proefdieren. Dit type onderzoek is een noodzakelijk onderdeel van de geneesmiddelontwikkeling voor toepassing bij mensen. Een testbuis opstelling in een lab kan namelijk niet alle processen nabootsen die in het lichaam gebeuren met een geïmplanteerde toedieningsvorm.

Titel studie: Effecten van verschillende stress intensiteiten op langdurig angst gedrag
DEC nummer: 2012.I.12.122

Studie naar het verband tussen intensiteit van stress en het ontstaan van post traumatische stress stoornis (PTSS)
Achtergrond: Angststoornissen (waaronder PTSS) zijn aandoeningen waarvoor de huidige medicatie nog te kort schiet. Wij zoeken naar nieuwe aangrijpingspunten waarlangs we met medicijnen een verandering in dit ziekteproces teweeg kunnen brengen. Een traumatische gebeurtenis kan leiden tot een posttraumatische stress stoornis (PTSS). Niet alle stress leidt echter tot PTSS. Meestal zal een tijdje na een stressvolle gebeurtenis weer herstel optreden. Wanneer dit niet gebeurt

is er iets mis en kan PTSS ontstaan. Hoe een bepaalde stressor nu precies leidt tot PTSS en wanneer en onder welke condities er weer natuurlijk herstel optreedt is nog niet bekend. Dit experiment is opgezet om het verband tussen verschillende stress condities en het optreden van langdurige angst (een verschijnsel van PTSS) te onderzoeken.
Doel/hypothese: We willen weten in hoeverre de intensiteit en de condities van een stressor van invloed zijn op het ontstaan van PTSS. In andere woorden: wanneer leidt stress tot een normale, gezonde stress reactie en wanneer en onder welke condities leidt stress tot PTSS-achtige verschijnselen.
Globale aanpak vraagstelling: In dit experiment gebruiken we ratten om te onderzoeken: (1) De relatie tussen de intensiteit (aantal schokken en de duur van iedere schok) van de (traumatische) stress en de daarmee opgewekte langdurige angst. (2) Of de omstandigheden tijdens het opgroeien de gevoeligheid voor stress en het ontstaan van langdurige angst verhogen. Dit vereist dat dit onderzoek met proefdieren gebeurt. In dit geval ratten omdat veel van ons voorgaande onderzoek ook met ratten is uitgevoerd. In cellen of computermodellen is dit niet mogelijk.

Titel studie: Hersen gen expressie patronen in Neurexin 1 mutante muizen
DEC nummer: 2012.I.12.123

Het ontrafelen van het gen netwerk voor ontwikkelingsstoornissen van het brein
Achtergrond: Autisme en schizofrenie zijn ontwikkelingsstoornissen van het brein waarvoor geen efficiënte behandeling voor handen is. Om dit te kunnen ontwikkelen is meer kennis nodig over de processen die ten grondslag liggen aan deze ziekten. Het ontrafelen van netwerken van genen die tezamen bijdragen aan de ontwikkeling van het brein is daarbij een belangrijke stap voorwaarts.
Doel/hypothese: Het in kaart brengen van gen netwerken in relatie tot de verstoring van een gen (te weten, het zogenaamde neurexin 1 gen) welke gekoppeld is aan ontwikkelingsstoornissen van het brein bij de mens.
Globale aanpak vraagstelling: Hersencellen van muizen met en zonder een mutatie in het neurexin 1 gen worden onderzocht op gen netwerk profielen tijdens verschillende momenten in de ontwikkeling van het brein. Het verzamelen van hersencellen met een specifieke mutatie in dit gen is niet mogelijk bij mensen.

Titel studie: Rol van 5HT1A receptoren bij acquisitie en expressie van context angst
DEC nummer: 2012.I.12.124

Banger door een verkeerde serotonine receptor?
Achtergrond: Sommige mensen hebben een net iets ander gen voor een serotonine receptor dan andere mensen. Hierdoor zijn ze angstiger in een omgeving waar ze schokjes hebben gekregen. Dit is gemeten in een laboratorium, maar kan ook in het dagelijks leven angstklachten geven.
Doel/hypothese: Met deze experimenten gaan we onderzoeken wat er mis is met deze receptor. Werkt de receptor te goed, of juist slecht. En waar in de hersenen is dat dan? In het commandocentrum, of juist bij de uitvoering. Gaat het mis tijdens de schokjes, of pas later als je weer terugkomt in de omgeving waarin je de schokjes kreeg?
Globale aanpak vraagstelling: Om dit te onderzoeken gebruiken we ratten. Bij ratten kunnen we namelijk farmaca injecteren die we niet aan mensen mogen geven, omdat de veiligheid van de middelen niet bekend is. De ratten krijgen schokjes in de schokbox en 24 uur later meten we of ze banger zijn in de schokbox dan in een andere even grote box. De farmaca die we testen werken of op de receptoren in het commandocentrum van de hersenen of op het uitvoerende deel. De farmaca worden gegeven voordat de dieren schokjes krijgen, of voordat ze opnieuw in de schokbox geplaats worden. Door deze situaties met elkaar te vergelijken krijgen we een antwoord op onze vragen.

Titel studie: Understanding the neurobiological substrates of normal (and disturbed) feeding behavior
DEC nummer: 2012.I.12.125

Inzicht in de rol van leptine in motivatie en angst
Achtergrond: In de huidige snel ontwikkelende en drukke maatschappij zijn ongezonde eetgewoonten (overeten, verwennerij in cafetaria / fast food dieet) in combinatie met een gebrek aan lichaamsbeweging oorzaak geweest van een enorme toename van zwaarlijvigheid en obesitas-gerelateerde ziekten. Interessant is dat obesitas gerelateerde ziekten zoals hartfalen en oncologische problemen een grote last vormen voor de individuele personen alsmede ook de samenleving. Ons huidige werk bestudeert obesitas vanuit een andere aanpak: het te veel eten bij obesitas begrijpen. Dit zal ons helpen de neurale circuits te ontcijferen van overeten bij obesitas en mogelijk nieuwe deuren openen voor therapeutische benaderingen voor de behandeling van obesitas. Bovendien is de verbinding tussen stress en obesitas bekend. Deze studie heeft ook als doel ook om te begrijpen hoe een voedingssignaal (leptine in dit geval) bijdraagt aan verschillende, maar overlappende aandoeningen / fenotypen (angst, motivatie obesitas).
Doel/hypothese: Inzicht verkrijgen in de invloed van obesitas geassocieerde neurobiologische veranderingen in de hypothalamus en het beloningscircuit van de hersenen en hun bijdrage bij overeten. Specifiek het begrijpen van het effect van leptine resistentie in verschillende hersengebieden op de motivatie voor voedsel beloningen en op stress en angstig gedrag.
Globale aanpak vraagstelling: De huidige studie zal ons helpen de rol van leptine te begrijpen in hersencircuits die ten grondslag liggen aan motivatie, te veel eten en stress / angst. Via zorgvuldig ontworpen experimenten willen we de betrokkenheid van dit hersengebied op leptine gemedieerde effecten als angst en motivatie identificeren. Deze kennis zal ons meer inzicht geven in de functionele diversiteit van leptine. Ook zal dit ons helpen te begrijpen hoe leptine resistentie tijdens obesitas ook kan leiden tot verhoogde motivatie voor het verkrijgen van smakelijk voedsel. Doordat we hier kijken naar complexe gedragingen kan dit alleen in een intact organisme uitgevoerd worden. Hiervoor worden ratten blootgesteld aan diverse testen. Door deze testen kunnen we kijken hoe angstig een dier is, maar ook hoe gemotiveerd de rat is. Hierbij zullen we te allen tijde het onvermijdbaar ongerief tot een minimum beperken.

Titel studie: Vestibular damage by Thulium Laser assisted stapedotomy, a study in guinea pigs
DEC nummer: 2012.I.12.126

Schade aan het binnenoor door een operatie aan de gehoorsbeentjes met de Thulium of CO2 laser
Achtergrond: Bij otosclerose groeit het laatste gehoorbeentje, de stijgbeugel, vast aan het binnenoor (het evenwichtsorgaan en het slakkenhuis). Om het gehoorverlies te herstellen, wordt er een gaatje gemaakt in de stijgbeugel om een prothese in te plaatsen. Dit gaatje kan gemaakt worden met gebruik van een laser (de KTP, thulium of CO2-laser), maar dit kan mogelijk schade geven in het binnenoor, wat kan leiden tot doofheid, duizeligheid of oorsuizen. Deze studie wordt gedaan om eventuele schade aan het binnenoor beter in kaart te brengen en later te bepalen welke laserbehandeling de minste schade oplevert.
Doel/hypothese: Het doel van het onderzoek is het bepalen van de schade aan het binnenoor, veroorzaakt door Thulium of Co2 laser, in een diermodel.
Globale aanpak vraagstelling: Bij 8 cavia's zal er een gaatje worden gemaakt in de stijgbeugel, bij 4 cavia's met de CO2 laser, bij 4 cavia's met de Thulium laser.

Titel studie: Effects of an iron-deficient diet in pre-weaning piglets on spatial discrimination performance in a holeboard task around weaning
DEC nummer: 2012.I.12.127

Effecten van ijzerdeficiëntie in pasgeboren biggen op cognitieve ontwikkeling
Achtergrond: IJzerdeficiëntie bij mensen is een probleem in ontwikkelingslanden. IJzer is belangrijk voor de vorming van hemoglobine, dat nodig is voor het zuurstoftransport in het bloed en de stofwisseling. Daarnaast is ijzer van belang voor de hersenontwikkeling. Niet alleen voor de mens, maar ook voor biggen is ijzer is belangrijk voor de ontwikkeling. De effecten van ijzerdeficiëntie op latere cognitieve functioneren zijn nog nauwelijks met gecontroleerde experimenten bestudeerd.
Doel/hypothese: Wij zullen de effecten van ijzerdeficiëntie in jonge biggen op korte- en langetermijngeheugen op latere leeftijd in kaart brengen met een holeboard taak, met als hypothese dat ijzerdeficiëntie tot cognitieve deficiënties leidt.
Globale aanpak vraagstelling: Jonge biggen zullen een dieet gevoerd krijgen met een tekort aan ijzer, en vervolgens op latere leeftijd in een holeboard taak getest worden. Hiermee kunnen we het korte- en langetermijngeheugen en ook de flexibiliteit testen. De effecten van ijzerdeficiëntie op zeer jonge leeftijd onder gecontroleerde condities kunnen wij alleen met behulp van proefdieren onderzoeken.

Titel studie: Orexin receptoren en elektrofysiologische activiteit in het midbrein
DEC nummer: 2012.I.12.128

Effect van receptorsysteem op de activiteit van dopamine neuronen in het mesolimbische systeem
Achtergrond: Drugsverslaving en eetstoornissen zijn hersenziekten met grote medische en maatschappelijke gevolgen waar slechts beperkte behandelmethoden voor bestaan. Kennis die wordt opgedaan in dit onderzoek kan bijdragen aan de ontwikkeling van nieuwe behandelingen voor deze ziektes.
Doel/hypothese: Het doel van deze experimenten is het bestuderen van de invloed van het orexin hersensysteem op het dopamine hersensysteem. Beide deze systemen spelen een rol bij verslaving en eetstoornissen.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek worden in hersenplakjes van muizen de celnetwerken bestudeerd van hersensystemen. Omdat er hier gekeken wordt naar de werking van de orexin stoffen op een grotendeels intact hersengebied, kan dit alleen met weefsel van proefdieren gedaan worden.

Titel studie: Rol van cannabinoïde (CB)1 receptoren bij het verwerken van emotionele stimuli en onderdrukken van angst
DEC nummer: 2012.I.12.129

Bang zijn of juist niet? wat is de rol van de cannabinoïde receptor hierbij?
Achtergrond: Om goed te kunnen functioneren is het belangrijk dat mensen onderscheid kunnen maken tussen de aan- en afwezigheid van gevaar. Mensen met een angststoornis kunnen dit vaak niet, omdat zij informatie uit de omgeving anders verwerken, of omdat ze hun angst reactie niet goed kunnen onderdrukken. Het endocannabinoïde systeem is belangrijk bij informatieverwerking en het onderdrukken van gedrag.
Doel/hypothese: Met deze studies onderzoeken wij of cannabinoïde receptoren ook een rol spelen bij het verwerken van informatie die op gevaar duidt en of deze receptoren van belang zijn bij het onderdrukken van de angstreactie.
Globale aanpak vraagstelling: We leren dieren dat ze in de ene box een schok kunnen krijgen, maar in een andere box niet. Of dat ze een schok krijgen als ze een bepaalde toon horen, tenzij er ook een licht aan gaat. Na deze training worden de dieren behandeld met een geneesmiddel dat de werking van de

cannabinoïde receptor stimuleert of juist blokkeert. Vervolgens meten we of deze geneesmiddelen de angstreacties van de dieren hebben veranderd. Deze ingewikkelde testen zijn niet na te bootsen met computers, en (nog) niet uit te voeren in mensen, omdat dan eerst moet worden aangetoond dat het gebruik van deze geneesmiddelen helemaal veilig is voor mensen.

Titel studie: Characterization of age-related alterations in white matter and gray matter connectivity
DEC nummer: 2012.I.12.130

Karakteriseren van veranderingen in hersennetwerken door veroudering
Achtergrond: Normaal functioneren van de hersenen wordt ondersteund door de samenwerking tussen de verschillende onderdelen. Gedurende het ouder worden treden er voortdurend veranderingen op in de verbindingen tussen de gebieden, en de manier waarop zij samenwerken. Neurologische en psychiatrische stoornissen, waaronder Alzheimer, zijn mogelijk het gevolg van een verstoring in de samenwerking tussen hersengebieden. Er is echter nog weinig bekend hoe gedurende het normale verloop van veroudering de samenstelling en functie van hersennetwerken verandert, en wat het gevolg van die veranderingen is voor het functioneren.
Doel/hypothese: Het karakteriseren van veranderingen in connectiviteit op het niveau van de witte stof (verbindingen) en grijze stof (neuronen) als gevolg van normale hersenontwikkeling in de rat gedurende veroudering, met behulp van MRI.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek wordt de rat als diermodel gebruikt. Inzicht in de ontwikkeling van de hersenen van de rat draagt bij aan de interpretatie van veel ander hersenonderzoek in dit diermodel, en is van belang voor de vertaling naar de mens. De rat wordt in relatief korte tijd van jong tot op oude leeftijd met speciale hoogwaardige MRI-scanners gevolgd, waarmee het mogelijk is daadwerkelijk de ontwikkeling binnen het individu in kaart te brengen.

Titel studie: Role of melanocortins in motivation for food reward
DEC nummer: 2012.I.12.131

De rol van melanocortines bij motivatie voor voedselbeloning
Achtergrond: We leven in een maatschappij die blootgesteld wordt aan een breed scala van smakelijke etenswaren, met name vet en suikerrijke producten. Deze blootstelling heeft geleid tot een verhoging van het percentage van overgewicht en obesitas. Het is bekend dat ratten op een vet- en suikerrijk dieet meer gemotiveerd zijn om te werken voor een lekkere beloning. Melanocortines zijn hormonen met een sterke anorexogenic werking, dit wil zeggen dat ze de voedselinname verminderen en het gewichtsverlies bevorderen. Interessant is dat de receptoren van deze hormonen, naast dat ze tot expressie komen in de hypothalamus (hersengebied voor regulatie van de voedselinname), ook in het beloningscentrum (gebieden met betrekking tot motivatie voor natuurlijke en kunstmatige beloningen) van de hersenen tot expressie komen. Hoe dit systeem werkt in het ventrale tegmentale gebied (een gebied binnen het beloningscircuit) op modulatie van de motivatie is onbekend.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie om de rol van het melanocortine systeem in het ventrale tegmentale gebied (in ratten) op motivatie voor vet- en suikerrijke producten te ontcijferen.
Globale aanpak vraagstelling: De hersenen zijn een complex orgaan. Zelfs eenvoudige gedragingen, zoals eten en zoeken naar eten, is het gevolg van complexe acties in de hersenen. Interessant is dat stimuli (zoals voedsel) hormoon waarden in de hersenen kunnen veranderen. Maar is deze verandering in hormoonlevels de oorzaak van het gedrag? Zo ja, welk hersengebied zorgt ervoor? Dat zijn de vragen die we proberen te beantwoorden in het huidige experiment. Wij bestuderen het effect van a-MSH (een eetlustremmend hormoon) in het ventrale tegmentale gebied (onderdeel van beloningsgebied) op de motivatie voor een voedsel beloning en op de vrij consumptie daarvan. Het ventrale tegmentale

gebied is sterk betrokken bij de rol in de motivatie, daarom zal onze huidige studie aangeven of melanocortine signalering in dit gebied betrokken is bij de verandering in motivatie. Omdat wij onderzoek doen naar gedrag kan dit alleen in intacte dieren plaatsvinden en zullen wij het ongerief wat dit met zich meebrengt tot een minimum beperken.

Titel studie: Role of individual food components on motivation for a palatable reward
DEC nummer: 2012.I.12.132

Begrijpen van de rol van individuele voedselcomponenten op motivatie voor een lekkere beloning
Achtergrond: Obesitas en obesitas gerelateerde ziekten zijn een groeiend probleem in zowel de Westerse als in ontwikkelingslanden. De overvloed van smakelijk voedsel waaraan we worden blootgesteld in ons dagelijks leven, daarvan wordt verondersteld dat het een aanzet factor is voor de ontwikkeling van obesitas. Interessant is dat het voedsel waaraan we worden blootgesteld in ons dagelijks leven een samenstelling is van meerdere bestanddelen. We hebben in ons lab gezien dat obese dieren meer gemotiveerd zijn om te werken voor een smakelijke beloning, suiker in dit geval. Maar wat is het wezenlijke kenmerk van suiker, wat maakt het motiverend? Is het de smaak, het effect nadat het is ingenomen, maakt dat het de moeite waard? In de huidige reeks van experimenten willen we onderscheid maken in

Obese muis (l) naast een normale kooigenoot (r).



voedingscomponenten van sucrose en chocolade en onderzoeken welke afzonderlijke componenten in deze stoffen ze zo aantrekkelijk maken.
Doel/hypothese: Het doel is om verslavende of preventieve eigenschappen van natuurlijke en kunstmatige zoetstoffen en andere smakelijke voedingscomponenten te beoordelen en de mogelijkheid om nieuwe voedingsmiddelen te ontwikkelen om de verslavende eigenschappen van suikers en andere smakelijke voedingscomponenten te gaan beoordelen. Om de motivatie voor voedsel te bestuderen gebruiken we een progressive ratio programma waarbij de dieren op een pedaal moeten drukken om een beloning te krijgen. Elke volgende stap om een beloning te krijgen moet de rat meer drukken. Door gebruik te maken van diverse testen (progressieve ratio, chronische blootstelling) en het veranderen van de voedingsbestanddelen (smaak, aroma's, post voedselinname effecten: het geven van tijd om het eten te verteren en vervolgens het testen van motivatie), enz. kunnen we de belonende bestanddelen van voedsel onderstrepen.
Globale aanpak vraagstelling: We bestuderen de fysiologie en het gedrag. En helaas kunnen onderzoeken als deze niet worden uitgevoerd in in vitro systemen. Doordat mensen worden blootgesteld aan een complex milieu en niet alle factoren kunnen worden geregeld die van invloed zijn op de resultaten, is het ook niet mogelijk om het in mensen uit te voeren. Aangezien de omgevingsfactoren van gedragsexperimenten zorgvuldig kunnen worden gecontroleerd en uitgevoerd bij dieren zal het effect sterker zijn en is er minder kans op bijverschijnselen. Uiteraard heeft het uiteindelijke doel van al deze studies een sterke relevantie voor menselijke situaties, maar het opzetten van experimenten in een gecontroleerde omgeving is eerst nodig om een stabiele basis te hebben. Om dit te kunnen doen worden de ratten getraind in een gedragskooi, waar ze de mogelijkheid hebben om op hendeltjes te drukken. Bij de actieve hendel krijgen ze een beloning. In het progressive ratio programma moeten de ratten steeds vaker drukken om een beloning te krijgen. Op deze manier kunnen we testen voor welke onderdelen van de beloning, in dit geval suiker of chocola, de ratten het hardst willen werken. Ook wordt er gekeken naar het effect dat het voedsel zelf geeft op motivatie. Hiervoor krijgen de ratten het voedsel in de kooi en wordt op een later tijdstip (zodra het voedsel aan het verteren is) getest op motivatie.

Titel studie: X-ray measurements of anatomic limitations of the femero-tibial joint in relation to the occurrence of movements of the knee joint in pigs from 4 to 7 weeks of age
DEC nummer: 2012.I.12.133

Metingen van anatomische grenzen kniegewricht met behulp van röntgen, in relatie tot voorkomen van bewegingen van het kniegewricht bij biggen in de leeftijdsklasse van 4 tot 7 weken
Achtergrond: Osteochondrose (OC) is een aandoening die voorkomt bij onder andere varkens maar bv. ook bij de mens. Hierbij gaat het om een storing in de verbening van het bij de geboorte aanwezige gewrichtskraakbeen. Hierdoor is het gewricht minder sterk en minder bestand tegen bv. belasting invloeden van buitenaf. Zodoende wordt het gewricht overbelast, treedt er zwelling en dus pijn op, waardoor dieren en dus ook mensen kreupelheid vertonen. Kreupelheid is een ernstige aantasting van het welzijn van de dieren. Het zorgt in de varkenshouderij voor welzijnsdaling en economische verliezen. Men vermoedt dat het verdwijnen van de bloedvaten in het kraakbeen bij de overgang naar bot van belang is bij het ontstaan van osteochondrose op jonge leeftijd en dat door de biomechanische overbelasting bv. door het uitglijden van biggen deze ontwikkeling verstoord raakt en het kniegewricht zo kwetsbaarder wordt om OC te ontwikkelen.
Doel/hypothese: Het in kaart brengen van de verschillende bewegingen van het kniegewricht bij jonge biggen.
Globale aanpak vraagstelling: Een groep gespeende biggen worden in vivo met behulp van een videocamera gevolgd, waarbij de verschillende bewegingen van het kniegewricht worden bekeken (ethogram). Vervolgens wordt de beweging van het uitglijden van een big opgewekt door de dieren over een gladde vloer te laten lopen. Om de bewegingen ex vivo te analyseren worden de biggen geeuthanaseerd om zo aansluitend onder een röntgenapparaat de maximale bewegings-

mogelijkheden te simuleren en de bijbehorende gewrichtshoeken te meten. Vervolgens worden de gemeten in vivo bewegingen van het kniegewricht in een ex vivo biomechanische opstelling nagebootst en de resulterende drukken op met name het femoro-tibiale gewrichtsvlak bepaald.

Titel studie: Functionele analyse van C9ORF72 middels primaire celkweek
DEC nummer: 2012.I.12.134

Onderzoek naar de functie van het ALS eiwit C9ORF72
Achtergrond: Amyotrofe Laterale Sclerose is een ernstige ziekte die jaarlijks in Nederland bij ongeveer 500 mensen wordt geconstateerd. Patiënten krijgen klachten van zwakte in de armen en benen en moeite met slikken en spreken. Na het ontstaan van de klachten leven patiënten gemiddeld nog 3 jaar; uiteindelijk overlijden ze door zwakte van de ademhalingsspieren. We weten dat een verandering in het gen C9ORF72 de ziekte veroorzaakt in een deel van de patiënten. Het is onbekend hoe de genverandering de ziekte veroorzaakt, maar er is een vermoeden dat er minder van het eiwit wordt aangemaakt. Het is onbekend wat het eiwit doet dat door dit gen gecodeerd wordt en wat voor effect de genverandering heeft op het eiwit. Inzicht in het ziekteproces is essentieel om een therapie voor de ziekte te vinden.
Doel/hypothese: Inzicht krijgen in de functie van het eiwit C9ORF72. Globale aanpak vraagstelling: Om te ontdekken wat de functie is van het eiwit C9ORF72 willen we kijken wat er gebeurd als cellen meer of minder van het eiwit aanmaken. ALS is een ziekte van zenuwcellen. Normaal delen zenuwcellen zich niet en daarom kun je ze ook niet langdurig kweken. Daarom hebben we muizen nodig om onderzoek aan zenuwcellen te kunnen doen. We kunnen uit muizen hersen- en ruggemergcellen halen en die gebruiken om normaal eiwit en gemuteerd eiwit aan te maken en te bekijken wat het effect is op de zenuwcellen.

Titel studie: Research into sexual side effects of the new antidepressant vortioxetine
DEC nummer: 2012.I.12.135

Een studie in ratten naar de mogelijke seksuele bijwerkingen van het nieuwe antidepressivum vortioxetine
Achtergrond: Vortioxetine is een nieuw antidepressivum dat in clinical trials zeer goed lijkt te werken. Dit antidepressivum heeft een gecompliceerde werking: 1) het blokkeert de heropname van de neurotransmitter serotonine (dit zorgt voor de antidepressieve werking, maar ook voor de seksuele bijwerkingen) en 2) het stimuleert een groot aantal verschillende serotonine receptoren. Activatie van sommige van deze serotonine receptoren heeft een positief effect op seks. De hoop is nu dat de anti- en pro-seksuele werkingen van vortioxetine elkaar in evenwicht zullen houden.
Doel/hypothese: 1) We willen onderzoeken of het nieuwe antidepressivum vortioxetine seksuele bijwerkingen heeft. 2) Onderzoeken of stimulatie van bepaalde 5-HT receptoren (die ook door vortioxetine worden geactiveerd) leidt tot positieve dan wel negatieve effecten op het seksuele gedrag van ratten (in mannen en vrouwen).
Globale aanpak vraagstelling: Verschillende doseringen van vortioxitine zullen worden getest op het seksuele gedrag van mannetjes en vrouwtjes ratten. Om meer inzicht te krijgen in het mechanisme waarom vortixetine weinig seksuele bijwerkingen heeft (dit is de verwachting), zullen stoffen worden getest die specifiek bepaalde serotonine receptoren activeren die ook door vortioxetine worden geactiveerd. Seksueel gedrag kan niet in geïsoleerde cellen in kweek worden onderzocht. We gaan bovendien meten of chronische toediening van de verschillende stoffen leidt tot moleculaire veranderingen in de hersenen. De ratten zullen daarom aan het eind van het experiment worden gedood om de hersenen te kunnen bestuderen.

Titel studie: practicum speelgedrag bij de rat, geconditioneerde locomotoriek en sensitisatie bij de rat en sociale herkenning bij de muis
DEC nummer: 2012.I.12.136

Practicum speelgedrag bij de rat, geconditioneerde locomotoriek en sensitisatie bij de rat en sociale herkenning bij de muis

Achtergrond: Biomedische studenten (3e jaar studenten) leren tijdens deze cursus (onder begeleiding) hoe de logistiek, uitvoering en planning van een dierproef in zijn werk gaat.

Doel/hypothese: Aangezien de kans zeer groot is dat deze studenten tijdens hun latere beroepsuitoefening met proefdieren zullen gaan werken is het wenselijk dat ze tijdens hun opleiding ervaring met proefdieren en dierproeven opdoen.

Globale aanpak vraagstelling: De cursus is zodanig opgezet, dat de studenten binnen drie proeven kennis maken met verschillende componenten van gedragsonderzoek, te weten; een experiment met muizen en met ratten, een experiment een automatische en een met de hand gescoorde data analyse en een experiment met farmacologische interventie en een niet-farmacologisch experiment.

Andere Vergunninghouder

Universiteit Twente

Titel studie: Evaluatie van de efficiëntie van vernieuwde ijzeroxide nanodeeltjes als foto-akoestisch contrastmiddel bij lymfatische metastasen
DEC nummer: 2012.I.04.061

Evaluatie van de efficiëntie van vernieuwde ijzeroxide nanodeeltjes als foto-akoestisch contrastmiddel bij lymfatische metastasen
Achtergrond: Onderzoek heeft aangetoond dat toepassing van nanodeeltjes binnen het lymfatisch systeem in gezond weefsel na injectie in de huid een verhoogde respons tot gevolg heeft die onderzoekers kunnen meten met een nieuwe techniek (Foto-akoestiek). De response is met name aan de buitenkant van de klier gelokaliseerd. Injectie van deze deeltjes bij een diermodel met uitzaaiingen van kanker moet uitwijzen of de beeldvorming in dit geval veranderd is en of diagnostisering van afwijkingen aan de hand van deze verandering mogelijk zou kunnen zijn.
Doel/hypothese: Het aantonen van de mogelijkheid van het gebruik van vernieuwde ijzeroxide nanodeeltjes om uitzaaiingen van kanker te detecteren met behulp van een nieuwe techniek (foto-akoestiek).
Globale aanpak vraagstelling: Injectie van kankercellen in de (linker) poot van de rat zorgt voor uitzaaiingen in 80% van de dieren na 14 dagen. Maximaal 14 dagen na toediening van deze suspensie volgt een injectie van ijzeroxide (Sienna+) nanodeeltjes in beide poten, waarna euthanasie zal worden uitgevoerd na 24 uur. Verwijdering en imaging onderzoek van beide lymfeklieren zal hierna volgen. Stapsgewijze uitvoering van het onderzoek zal worden gedaan naar aanleiding van de resultaten van elk individueel dier. Een pilot studie heeft reeds uitgewezen dat het ongerief voor het dier gering is.

Titel studie: Culturing neuronal cells on planar microelectrode arrays
DEC nummer: 2012.I.11.108

Het kweken van neuronale cellen op micro electrode arrays
Achtergrond: Veranderende verbindingen tussen hersencellen zijn essentieel voor cognitieve processen als leren en geheugen. Verbindingen zijn visueel moeilijk te volgen en de sterkte van verbindingen wordt vaak geschat uit activiteitspatronen. Dat vereist gelijktijdige meting van de signalen van vele neuronen. In het intacte brein is dit een zeer invasieve procedure, die wordt bemoeilijkt door de kleine ruimte. Ook is chemische manipulatie niet eenvoudig. In vitro netwerken, geïsoleerde cellen die in een kweekbakje verbinding met elkaar maken, en zo een netwerk vormen, kennen deze beperking niet. Door de aanwezigheid van micro elektroden in de bodem van het kweekbakje, kunnen we gelijktijdig de activiteit in een groot aantal neuronen meten. Deze benadering biedt ook de mogelijkheid tot elektrische en chemische stimulatie. Bovendien bieden zogenaamde ex vivo experimenten een alternatief met weinig ongerief voor de dieren.
Doel/hypothese: Het doel van dit project is het bepalen van de fysiologische mechanismen achter leren en geheugen: hoe verandert de connectiviteit in een netwerk als iets nieuws wordt aangeleerd, en welke mechanismen / structuren zorgen voor geheugen? Bovendien kan inzicht in het normale functioneren van het brein leiden tot verbeterde behandeling van bepaalde aandoeningen zoals Epilepsie of de ziekte van Parkinson.

Globale aanpak vraagstelling: Voor het bestuderen van netwerkeigenschappen van neuraal weefsel gebruiken we netwerken van gekweekte neuronen op multi elektrode arrays. Deze cellen zijn afkomstig van net geboren Wistar ratten. Gekweekte neuronale netwerken zijn goed toegankelijk voor het meten van elektrische signalen en/of elektrische stimulatie en eventuele farmacologische manipulatie. Dit geeft de mogelijkheid cognitieve processen als leren en geheugen in meer detail te bestuderen dan mogelijk zou zijn in het intacte brein. Ook kan worden onderzocht hoe een gezond netwerk functioneert en hoe afwijkingen kunnen leiden tot bepaalde aandoeningen als Epilepsie of Alzheimer.

Lekensamenvattingen 2012

Kamer II

Hart/longen,
Immunologie & Infectie,
Vaten

Vergadering 18 januari 2012

Titel studie: Importance of TLR6 in Colitis Development and Progression
DEC nummer: 2012.II.01.001

Het belang van TLR6 tijdens de ontwikkeling en progressie van colitis in muizen
Achtergrond: Recent is aangetoond dat een verstoorde reactie op darmbacteriën mogelijk een belangrijke rol zou kunnen spelen in darmziekten. In de gezonde mens worden normale darmbacteriën voortdurend herkend door het afweersysteem, om zo adequaat te kunnen reageren op vreemde bacteriën. Hiervoor zijn een bepaalde groep van receptoren op darmcellen heel belangrijk. Deze receptoren, die Toll-like receptors (TLR) worden genoemd, zijn gespecialiseerd in het herkennen van bacteriële en schimmelcomponenten. Het is nog niet bekend hoe precies elk TLR bijdraagt aan de ontwikkeling van colitis in de darm. Dit voorstel beschrijft proeven die het belang van de receptor TLR6 zouden kunnen verklaren.
Doel/hypothese: TLR6 speelt een rol tijdens de ontwikkeling en progressie van colitis.
Globale aanpak vraagstelling: Voor de experimenten zullen genetisch gemanipuleerde muizen worden gebruikt die geen TLR6 hebben. Zonder TLR6 kunnen deze muizen niet meer bepaalde bacteriën en schimmels herkennen. Voorafgaande resultaten met gekweekte cellen suggereren dat TLR6 zeer belangrijk is tijdens het ontwikkelen van colitis in muizen. Aansluitend op deze experimenten zal het verloop van colitis binnen TLR6 deficiënte muizen worden onderzocht. Deze proeven worden in vivo uitgevoerd aangezien er geen computer model of in vitro systeem bestaat die de volledige interacties van pathogenen in de menselijke darm kunnen nabootsen.

Titel studie: Comparison of platelet aggregation in healthy cats and cats diagnosed with asymptomatic hypertrophic obstructive cardiomyopathy
DEC nummer: 2012.II.01.002

Vergelijking van de thrombocytenaggregatie (mate van samenklontering van de bloedplaatjes) bij gezonden katten en katten met asymptomatische hypertrofische cardiomyopathie (HOCM)
Achtergrond: Er is een algemene aanname dat katten met cardiopathieën een verhoogde stollingsneiging hebben en hierdoor een verhoogde kans op een trombo-embolie hebben. Studies naar thrombocytenaggregatie bij katten met cardiomyopathieën hebben wisselende resultaten getoond.
Doel/hypothese: De hypothese van deze studie is dat katten met HOCM significant verhoogde thrombocytenaggregatie hebben vergeleken met gezonde katten. Als deze hypothese correct blijkt kan het uitvoeren van een thrombocytenaggregatie studie mogelijk standaard worden ingezet bij een kat met HOCM en op deze manier worden beoordeeld of de kat een verhoogd risico loopt op het ontstaan van een trombo-embolie.
Globale aanpak vraagstelling: Er zijn geen andere manieren bekend om te beoordelen of HCM katten inderdaad een verhoogde thrombocytenaggregatie hebben vergeleken bij gezonde katten.

Titel studie: Immunological Consequences for Candida Infection during Colitis
DEC nummer: 2012.II.01.003

De invloed van C. albicans op de immuunrespons in een experimenteel colitis model
Achtergrond: De ziekte van Crohn wordt vaak geassocieerd met een infectie met de fungus, C. albicans. Hoewel deze infectie de ziekte niet erger maakt, maakt ze wel het leven meer ellendig voor de patiënten. Patiënten ontwikkelen gemakkelijker huidproblemen en de infecties verhogen de risico's bij het nemen van bepaalde geneesmiddelen. Zij ontwikkelen

ook antilichamen die specifiek zijn voor C. albicans en kunnen ook tegen bakkersgist reageren. In Frankrijk hebben ze nu een muismodel dat deze situatie nabootst. Dit model is een waardevol instrument om de rol van C. albicans infectie bij de ziekte van Crohn te bestuderen. Het is het doel van dit voorstel om dit model in Nederland op te starten en te gebruiken voor verder onderzoek naar de manier waarop de C. albicans invloed op de immuunrespons heeft. Deze kennis zal vervolgens gebruikt worden om behandelingen voor de ziekte van Crohn te ontwikkelen.
Doel/hypothese: C. albicans leidt tot meetbare veranderingen in de immuunrespons tijdens experimentele colitis. Het bepalen van de veranderingen zullen leiden tot inzichten in nieuwe behandelingen.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden besmet met C. albicans waarna vervolgens colitis zal worden opgewekt.

Titel studie: Validatie van genregulatie in aanloop tot antilichaamrespons
DEC nummer: 2012.II.01.004

Voorspellen van de afweerreactie tegen eiwitmedicijnen
Achtergrond: Eiwitmedicijnen zijn erg succesvol in de behandeling van o.a. kanker, diabetes en multiple sclerosis. Een groot nadeel van deze medicijnen is dat ze na verloop van tijd een afweerreactie veroorzaken in een gedeelte van de patiënten. Die afweerreactie kan ervoor zorgen dat de medicijnen niet meer werken of andere bijeffecten veroorzaken. In deze studie wordt bekeken of de afweerreactie kan worden voorspelt. Er wordt gekeken naar welke genen actief worden voordat de reactie meetbaar is en of die specifieke genen de reactie zouden kunnen voorspellen. Deze experimenten worden in genetisch gemodificeerde muizen, die een goed model zijn voor wat in patiënten plaatsvindt, uitgevoerd.
Doel/hypothese: Het identificeren en valideren van genen die actief worden in aanloop tot de afweerreactie tegen eiwitmedicijnen interferon beta (behandeling bij multiple sclerose) en insuline (behandeling bij diabetes).
Globale aanpak vraagstelling: Genetisch gemodificeerde muizen, en controlemuizen die niet genetisch gemodificeerd zijn worden herhaaldelijk geïnjecteerd (15 of 18 maal) met een interferon beta medicijn (Betaseron, Rebif of Avonex) of met insuline over een periode van 3 of 6 weken respectievelijk. Het bloed wordt getest op activatie van genen door middel van PCR.

Titel studie: Lama immunisatie met zuivere en complexe antigenen
DEC nummer: 2012.II.01.005

Ontwikkelen van Lama antilichaamfragmenten tegen factoren betrokken bij kanker en infectie ziektes
Achtergrond: Lama's beschikken over antilichamen die uitsluitend bestaan uit zware ketens. Dit heeft als gevolg dat het antigeen-bindende domein (VHH) een kleine molecuul is dat zich goed leent voor diverse biotechnologische processen. VHHs behouden verder alle eigenschappen van monoklonale antilichamen voor wat betreft antigeen binding en functiemodulatie. Door hun kleine formaat hebben de VHHs een voordeel m.b.t. weefselpenetratie en snelle excretie, waardoor ze onmerkbaar blijven voor het immuunsysteem. VHHs hebben hun therapeutische en diagnostische waarde laten zien in verschillende preklinische studies en zijn er verscheidene klinische studies door de industrie gestart om de therapeutische waarde van deze VHHs te bevestigen.
Doel/hypothese: Doel van elke immunisatieproef is het verkrijgen van een goede immuunrespons, om vervolgens een VHH-bibliotheek te genereren uit het RNA van de lymphocyten. VHHs met de gewenste eigenschappen worden uiteindelijk in vitro geselecteerd en getest op hun therapeutische en diagnostische potentie.
Globale aanpak vraagstelling: Om goed gemuteerde antilichamen te krijgen is immunisatie noodzakelijk en om enkele ketenachtige antilichamen te krijgen is het immuniseren van kameelachtigen (zoals Lama's) noodzakelijk. De immunisatieproef wordt uitgevoerd volgens een goed uitgewerkt protocol, dat veelvuldig gebruikt werd in de afgelopen jaren. Twee soort immunisatie protocollen worden gevolgd, afhankelijk van het te gebruiken immunogeen. Zuivere antigenen (C1) worden gemixt met adjuvants "Stimune" en intramusculair geïnjecteerd. Complexe antigenen (zoals cellen en weefsels)



(C2) worden subcutaan geïnjecteerd zonder adjuvants. Verder zijn de immunisatieduur en frequentie van de immunisaties gelijk. Mocht de immuunrespons niet goed genoeg worden geacht, dan wordt de immunisatie vervolgd voor een extra immunisatieronde na een rustperiode van 1 maand. De dieren worden hergebruikt voor nieuwe immunisatie na een rust periode van 4 weken. De dieren worden maximaal 4 keer geïmmuniseerd.







links-boven: Voor het immuniseren worden de lama's in een kleiner hok gezet, zodat ze makkelijker te pakken en te fixeren zijn.
rechts: De benodigde materialen voor de immunisatieprocedure en de goedgekeurde DEC-aanvraag.
links-midden: Het fixeren van de dieren gebeurt door ze bij de oren vast te pakken.
links-onder: Immunisatie door het geven van een intramusculaire injectie.







Na immunisatie mogen de lama's het kleine hok uit.



Het ruime buitenverblijf van de lama's.



Titel studie: Metallothionein-1: marker or mediator of a tolerogenic DC
DEC nummer: 2012.II.01.006

Metallothionein-1 als regulerend eiwit van het immuun systeem
Achtergrond: Chronische ontstekingsziekten zijn een ernstig probleem op zowel persoonlijk als maatschappelijk vlak. Uit eerder onderzoek is gebleken dat carvacrol, een bestandsdeel van vele oreganum soorten, kan beschermen tegen ziektes in een muismodel van reumatische artritis. Het mechanisme van deze bescherming is echter nog onduidelijk, wel is bekend dat immuun cellen behandeld met carvacrol veel van het eiwit metallothionein-1 produceren. Van dit eiwit is bekend dat het artritis is een muismodel kan onderdrukken.
Doel/hypothese: In dit onderzoek willen de onderzoekers kijken of metallothionein-1, geproduceerd door een bepaalde cel van het immuunsysteem, andere cellen van het immuunsysteem zo kan veranderen dat deze onderdrukkend worden. Deze onderdrukkende cellen zouden belangrijk kunnen zijn in onderdrukking van autoimmuunziekten zoals reumatische artritis.
Globale aanpak vraagstelling: Alle proeven zullen in vitro uitgevoerd worden. Dit betekent dat cellen van donor muizen geïsoleerd zullen worden en dat verder alle proeven en behandelingen van de cellen in het lab zullen worden uitgevoerd. Uit beenmerg van donor muizen kunnen bepaalde immuuncellen gekweekt worden. Deze immuuncellen zullen zo worden behandeld dat ze het eiwit metallothionein-1 zullen produceren. Het fenotype van deze cellen wordt bepaald en verder zullen deze cellen samen in kweek gebracht worden met andere cellen van het immuunsysteem. De onderzoekers verwachten dat deze andere immuuncellen een regulerend fenotype zullen aannemen door deze kweek en dit zal dan ook getest worden.

Titel studie: GSK-3beta blockade to enhance renal regeneration
DEC nummer: 2012.II.01.007

Remmen van het enzym GSK-3beta om nierherstel te bevorderen
Achtergrond: Acute nierschade komt veel voor in het ziekenhuis. Hoewel de nier een goed zelfherstellend vermogen heeft overlijdt een aanzienlijk deel van de deze patiënten en een groot gedeelte van de patiënten houdt enige vorm van nierschade. Het zelfherstellend vermogen omvat de vervanging van beschadigde cellen door nieuwe cellen die ontstaan door deling van de cellen die de schade overleefd hebben. Indien te weinig cellen de schade overleven, of de deling van deze cellen te beperkt is, is de schade irreversibel. Op dit moment zijn er geen therapieën beschikbaar om dit herstel te bevorderen. Nieuwe inzichten in de mechanismen van het zelfherstellend vermogen van de nier bieden nieuwe therapeutische aangrijpingspunten. Recente onderzoeken naar de mechanismen betrokken bij de (embryonale) ontwikkeling van de nier hebben laten zien dat het enzym GSK-3B een remmende werking heeft op de deling van niercellen. Lithium is een veelgebruikt medicijn binnen de psychiatrie. De gunstige effecten op het brein worden toegeschreven aan het feit dat lithium het enzym GSK-3B remt. Lithium heeft ook bijwerkingen op de nier, waaronder een toegenomen celdeling van niercellen. De cruciale rol van GSK-3B in de regulatie van celdeling binnen de ontwikkeling van de nier, en de bevindingen in de nier na gebruik van de GSK-3B remmer lithium, suggereren dat het herstel van nierschade gestimuleerd kan worden door GSK-3B te remmen.
Doel/hypothese: Hypothese: remming van een GSK-3B leidt tot toegenomen celdeling tijdens nierherstel en daarmee tot versneld en verbeterd herstel na nierschade. Het doel is derhalve een medicijn te ontwikkelen dat GSK-3B remt, om daarmee herstel na nierschade te bevorderen.
Globale aanpak vraagstelling: Eerst zal een veelgebruikt muizen model voor acute nierschade worden geoptimaliseerd. Hierbij worden de muizen onder anesthesie gebracht en worden door middel van een operatie de niervaten gedurende een bepaalde tijd afgeklemd. Hierdoor zal een deel van de niercellen afsterven, zoals dat ook bij acuut nierfalen in de klinische praktijk gebeurt. Deze niercellen zullen vervangen worden door deling van de overlevende cellen. Het is van

groot belang de niervaten niet te lang af te klemmen omdat dit tot onherstelbare schade kan leiden. Te kort afklemmen leidt daarentegen niet tot nierschade. Tijdens het optimaliseren van dit model zullen wij de ideale duur van afklemming proberen vast te stellen. De nierschade zal worden vervolgd aan de hand van afvalstoffen in het bloed en aan de hand van microscopisch onderzoek van de nier. De afvalstoffen in het bloed zullen vervolgd worden door middel van bloedafnames op specifieke tijdspunten na het aanbrengen van de nierschade. Hierbij wordt gekeken of er een toename van afvalstoffen in het bloed te zien is die normaal door de nier moeten worden uitgescheiden. Tevens wordt gekeken of de nierfunctie zich weer hersteld aan de hand van bloedafnames op een later tijdstip, waarin een daling van de concentratie afvalstoffen te zien moet zijn. Voor de microscopische analyse van de nieren zullen er muizen worden getermineerd 24 uur en 14 dagen na het aanbrengen van de schade om de nierschade te kunnen beoordelen op het moment van maximale schade en na herstel. Op deze manier hebben we verschillende methoden om het effect van de schade, het herstel en het eventuele effect van therapie te evalueren. Vervolgens zal worden gekeken of GSK-3B remmers herstel na acute nierschade kunnen stimuleren. Deze remmers worden gegeven door middel van regelmatige injecties in de buik nadat de schade is toegebracht. Het effect op nierherstel wordt geëvalueerd aan de hand van het effect op de nierfunctie (de hoeveelheid afvalstoffen in het bloed) en aan de hand van histologie (microscopisch onderzoek) op vastgestelde tijden nadat de schade is toegebracht. De verwachting is dat de GSK-3B remmer niet alleen het herstel versnelt, maar ook tot completer herstel leidt. Voor het vervolgen van de afvalstoffen in het bloed zal op specifieke tijden na het toebrengen van de schade bloed worden afgenomen bij de muizen. Voor het evalueren van de microscopische schade zullen dieren op specifieke tijden na het toebrengen van de schade worden gedood en zullen de nieren onder de microscoop worden bestudeerd. Tenslotte wordt het effect van GSK-3B blokkers op de intracellulaire mechanismen onder andere geëvalueerd aan de hand van genexpressie analyse op het nierweefsel van gedode dieren.

Titel studie: Effect of xenogeneic MSC in arthritic mice and subcutaneous route of administration
DEC nummer: 2012.II.01.008

De effectiviteit van mesenchymale stamcellen (MSC) gewonnen uit het beenmerg van volwassen mensen in muizen met gewrichtsontsteking en de effectiviteit van onderhuidse (subcutaan) toediening
Achtergrond: Onderzoek heeft reeds aangetoond dat mesenchymale stamcellen effectief zijn in het tegengaan van gewrichtsontsteking bij muizen. Het is het doel van de onderzoekers om dit te vertalen naar de patiënt met onbehandelbare gewrichtsontsteking. Tevens willen zij zoveel mogelijk te weten komen over het werkingsmechanisme met zo min mogelijk proefdieren.
Doel/hypothese: 1. Proberen om met zo min mogelijk proefdieren deze experimenten te doen door te kijken of kan worden volstaan met menselijke MSC's zodat we geen proefdieren nodig hebben om MSC's uit te kweken. 2. Kijken of de subcutane toediening even effectief is als de route via de buik omdat de eerste patiëntvriendelijk is en de tweede route niet bruikbaar in de praktijk.
Globale aanpak vraagstelling: De onderzoekers willen middels een uniek muizenmodel dat het best lijkt op hun reuma onderzoek, waarbij de gewrichtsontsteking minder ernstig verloopt na toediening van MSC's, proberen te achterhalen wat de beste toedieningswijze is en of de bron van deze cellen (proefdiersparend) het resultaat beïnvloedt. Er worden 3 behandelgroepen van 10 muizen gevormd:
1 behandelgroep krijgt muizen-MSC via de buikholte (bewezen effectief), 1 behandelgroep krijgt humane MSC via de buikholte, 1 behandelgroep krijgt muizen-MSC subcutaan en er is 1 controle groep van 10 muizen die geen behandeling krijgt, maar wel artritis.

Titel studie: Differentiële respons op aristolochic acid blootstelling in CTGF heterozygote knock out muizen
DEC nummer: 2012.II.01.009

Optimalisatie van door Aristolochic Acid veroorzaakte nierschade in heterozygote CTGF knock-out muizen
Achtergrond: Nierziekten eindigen bijna allemaal in verlittekening van de nier, deze littekens ontstaand door signaalstoffen. Een centraal regulerende signaalstof binnen de nierfibrose is bindweefsel groeifactor (CTGF). Mogelijk is CTGF een aantrekkelijk doelwit voor therapieën gericht op het voorkomen van nierlittekens. Om dit te onderzoeken maken de onderzoekers gebruik van een diermodel waarbij zij een stof (aristolochic acid) inspuiten. Deze stof is schadelijk voor de nier en bootst op adequate wijze nierschade na. De hoop is dat dit diermodel zal bijdragen om het verband tussen CTGF en de complicaties van chronische nierschade aan te tonen.
Doel/hypothese: Door het verminderen/verwijderen van CTGF zal het pro-inflammatoir en verlittekening door CTGF afnemen. Er zal dus minder nierverlittekening ontstaan in de CTGF deficiënte muizen.
Globale aanpak vraagstelling: In het lab zijn muizen aanwezig welke genetisch zo zijn aangepast dat ze slechts de helft van het CTGF produceren ten opzichte van zogenoemde onaangepaste 'wild type' muizen. Door toediening van schadelijk stoffen uit een reeds bewezen nierschademodel zal er nierschade ontstaan. Na verloop van tijd kan er gekeken worden of er minder littekens ontstaan bij CTGF deficiënte muizen t.o.v. van normale muizen. Ook kijken de onderzoekers naar de nierfunctie.

Titel studie: Differences in protein expression patterns in myocardial ischemia and reperfusion injury
DEC nummer: 2012.II.01.010

Mechanismen achter het ontstaan van een hartinfarct
Achtergrond: Een hartinfarct ontstaat wanneer een kransslagader, die het hart van zuurstofrijk bloed voorziet, afgesloten raakt. Dit leidt in veel gevallen tot een duidelijke afname van de hartfunctie door het afsterven van functioneel weefsel. Op lange termijn kan dit zelfs lijden tot extra complicaties, zoals hartfalen. De behandeling bestaat op dit moment uit het zo snel mogelijk herstellen van de doorbloeding (perfusie) van het hart om het gedeelte van de spier dat afsterft zo klein mogelijk te houden. Juist het herstellen van de doorbloeding kan echter ook tot additionele schade leiden (reperfusieschade). Op dit moment is het echter nog niet geheel duidelijk hoe deze reperfusieschade ontstaat en welke mechanismen er precies een rol spelen. Daarom is het van belang dat er onderzocht wordt hoe deze reperfusieschade ontstaat en welke factoren hierbij een rol spelen. Wanneer deze factoren geïdentificeerd worden, kunnen er mogelijk medicijnen ontwikkeld worden die reperfusieschade kunnen voorkomen. Een andere optie is dat deze factoren gebruikt worden om aan te tonen of er bij een bepaalde patiënt sprake is van een hartinfarct.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om na te gaan wat er precies gebeurt in het hart wanneer er een infarct optreedt. Daarbij wordt specifiek bekeken welke mechanismen en factoren (bijvoorbeeld eiwitten) ervoor zorgen dat hartspiercellen uiteindelijk afsterven en op welke manier reperfusie precies leidt tot het afsterven van deze hartspiercellen. Het is belangrijk dat deze factoren geïdentificeerd worden, zodat er vervolgens o.a. medicijnen ontwikkeld kunnen worden die op deze eiwitten inwerken.
Globale aanpak vraagstelling: Bij varkens zal er tijdelijk een afsluiting van een kransslagader plaatsvinden om een menselijk hartinfarct na te bootsen. Na een bepaalde periode wordt vervolgens de kransslagader geopend (hetgeen in de menselijke situatie ook zou gebeuren door bijv. een dotterbehandeling). Gedurende de afsluiting en opening van het bloedvat zal er op verschillende momenten bloed worden afgenomen dat direct afkomstig is van de hartspier. Dit bloed

zal vervolgens vergeleken worden met bloed dat op andere plaatsen in het lichaam is afgenomen. Op deze manier kunnen verschillende factoren in het bloed met elkaar vergeleken worden om te achterhalen welke componenten uit het bloed belangrijk zijn en vrijkomen gedurende zuurstofgebrek van het hart.

Titel studie: (Cell)Beads Biodistribution Study
DEC nummer: 2012.II.01.011

De biodistributie van medicatie om vaatlijden te voorkomen
Achtergrond: 1. Een hartinfarct leidt in veel gevallen tot een duidelijke afname van de hartfunctie door het afsterven van functioneel weefsel. Dit probeert men te voorkomen door mensen met een hartinfarct zo snel mogelijk aan een behandeling te helpen die de doorbloeding van het hart herstelt. Desondanks leidt een hartinfarct in veel patiënten tot een verminderde kwaliteit van leven door verminderde hartfunctie. Het toedienen van een medicijn na het heropenen van het bloedvat kan het infarct verder verkleinen en op deze manier de hartfunctie verbeteren. Hierdoor daalt de kans op complicaties (hartfalen) en verbetert de kwaliteit van leven. 2. Hart en vaatziekten zijn nog steeds doodsoorzaak nummer één in de geïndustrialiseerde landen. Dit heeft tot gevolg dat er veel energie gestoken wordt in het verbeteren van de behandeling van deze patiënten met hart- en vaatziekten. Ondanks de technologische ontwikkelingen zijn er nog steeds grote groepen patiënten die geen profijt hebben van deze ontwikkelingen. Voor deze patiënten zijn alternatieve benaderingen noodzakelijk. Een voorbeeld hiervan is het stimuleren van de natuurlijke aanleg van nieuwe bloedvaten met behulp van specifieke groeifactoren. Dit proces wordt neovascularisatie genoemd. Onze kennis over de biologische processen die ten grondslag liggen aan de neovascularisatie is de laatste jaren erg toegenomen en een groeiend aantal factoren met potentieel therapeutische waarde om nieuwe bloedvatvorming te stimuleren is geïdentificeerd. Desondanks is de vertaling van de kennis naar therapeutische toepassingen in patiënten teleurstellend gebleken. Een van de oorzaken is de inadequate afgifte van de therapeutische factoren in de weefsels waar de nieuwe bloedvaten aangelegd moeten worden. Om uiteindelijk de klinische uitkomst van de groeifactor behandeling te verbeteren is het noodzakelijk nieuwe afgiftesystemen voor de groeifactoren te ontwikkelen. In zowel het geval van het verkleinen van een hartinfarct (1), als het stimuleren van neovascularisatie (2) is een afgiftesysteem vereist dat lokale afgifte van medicamenten over een langere periode, mogelijk maakt. In deze studie wordt een dergelijk systeem onderzocht. Dit systeem is gebaseerd op een kapsel van biopolymeren waar binnen bepaalde stoffen kunnen worden geplaatst die langzaam aan het omliggende weefsel worden afgegeven.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om te kijken naar de verdeling van deze biopolymeren in het hart. Dit houdt in dat er na injectie van de polymeren wordt gekeken of de medicatie ook daadwerkelijk in het juiste weefsel terecht komt en in welke hoeveelheid. Het is noodzakelijk deze informatie te hebben omdat er anders in de toekomst niet met zekerheid vastgesteld kan worden of de medicatie waarmee een patiënt behandeld wordt, ook daadwerkelijk in het hart aanwezig is. Daarnaast kan met behulp van deze informatie ook de toekomstige doseringen van bepaalde medicamenten bepaald worden.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek worden polymeren van drie verschillende maten getest in varkens. Hierbij wordt de medicatie via een bloedvat in de kransslagaders gebracht. Nadat de medicijnen zijn ingebracht zal het hart worden onderzocht waardoor duidelijk wordt waar de medicijnen in het hart terecht komen. Varkens zijn erg geschikt voor dit onderzoek, omdat zowel de grootte van het hart als de grootte van de kransslagaders erg veel op die van mensen lijkt waardoor de distributie van de medicatie vergelijkbaar zal zijn.

Titel studie: Induction of heat shock protein-specific regulatory T cells
DEC nummer: 2012.II.01.012

De rol van regulatoire T cellen in reumatische artritis
Achtergrond: Wij onderzoeken afweer cellen (regulatoire T cellen), die “heat shock eiwitten” herkennen. Deze eiwitten worden gemaakt tijdens ontstekingen en kunnen vervolgens regulatoire T cellen aanzetten tot het onderdrukken van de ontsteking. Bij gezonde mensen werkt dit proces goed, maar bij reumapatiënten blijkt dit niet te zijn.
Doel/hypothese: Het doel van ons onderzoek is om aan te tonen dat het toedienen van heat shock eiwitten aan reumapatiënten (in ons geval muizen), de regulatoire T cellen activeert. Wij verwachten dat deze activatie leidt tot onderdrukking van de ontsteking.
Globale aanpak vraagstelling: Wij gebruiken voor dit onderzoek muizen, omdat reuma een complexe ziekte is die niet bestudeerd kan worden met computer modellen, cellijnen of andere alternatieven voor proefdieren: door verantwoord dieren te gebruiken zijn we sneller in staat nieuwe medicijnen te ontwikkelen die reumapatiënten kunnen helpen. De opzet van het onderzoek is als volgt: we dienen HSP’s toe door middel van immunisatie en uit de geïmmuniseerde dieren halen we voorlopercellen van regulatoire T cellen. Deze voorlopercellen stimuleren we met HSP’s in vitro (in een reageerbuis), zodat geïnduceerde regulatoire T cellen ontstaan. De cellen worden vervolgens aan muizen met reuma gegeven: als deze muizen minder ziek worden dan hebben we aangetoond dat HSP’s regulatoire T cellen maken die ontstekingen kunnen onderdrukken.

Titel studie: Vergelijkende studie: Artritisinductie d.m.v. proteoglycaan of G1-eiwit
DEC nummer: 2012.II.01.013

Vergelijkende studie: Artritisinductie d.m.v. proteoglycaan of G1-eiwit
Achtergrond: Reuma kan opgewekt worden door muizen te injecteren met kraakbeenextract (proteoglycaan) in combinatie met een adjuvant (als gevarensignaal om het immuunsysteem te activeren). Omdat er grote overeenkomst bestaat tussen proteoglycaan van muizen en mensen, zullen de dieren na de tweede injectie reuma ontwikkelen. Het verkrijgen van gezuiverd en geknipt proteoglycaan is echter een kostbaar, intensief en tijdrovend karwei. In een recent verschenen artikel werd gesuggereerd dat injectie met G1-eiwit (uit kraakbeen) leidt tot een vergelijkbaar ziektemodel.
Doel/hypothese: In dit experiment wordt bekeken of injectie met G1-eiwit plus adjuvant leidt tot het ontstaan van een vergelijkbare reumatische aandoening als wanneer proteoglycaan + adjuvant wordt ingespoten. Als dit het geval is, kunnen de onderzoekers in de toekomst dit reuma-verwekkende eiwit sneller en efficiënter verkrijgen.
Globale aanpak vraagstelling: Omdat reuma niet buiten een levend wezen gerealiseerd kan worden, zal het onderzoek moeten plaatsvinden in proefdieren. Muizen zullen driemaal geïnjecteerd worden met proteoglycaan of G1-eiwit in combinatie met adjuvant. Hierdoor ontwikkelen de dieren reuma. De ernst en het verloop van de ziekte zal driemaal per week gemeten worden door de mate van zwelling en roodheid van de enkels, voeten en tenen van elke muis afzonderlijk te bepalen. Daarnaast zal driemaal bloed afgenomen worden om antistoffen in het bloed te meten.

Titel studie: Immune responses to infections in LAIR-KO mice
DEC nummer: 2012.II.01.014

De invloed van de remmende receptor (LAIR-1) op de regulatie van de afweer immuunrespons
Achtergrond: Tijdens infectie wordt de afweer immuunrespons geactiveerd door pathogenen. Maar ongecontroleerde of aanhoudende immuunactivatie kan het ziektebeeld verergeren. Een goede regulatie van de afweer immuunrespons is daarom nodig. Een van de mechanismes die hiervoor zorgt is de immuun remmende receptor, zoals LAIR-1. Het is onbe-

kend of LAIR-1 functie invloed heeft op de afweer immuunrespons tijdens virale of bacteriële infectie en tijdens pathogeen verwijdering. Dit is het onderwerp van onderzoek van deze aanvraag.
Doel/hypothese: Kan LAIR-1 de ernst van een virale of bacteriële tijdens infectie beïnvloeden?
Globale aanpak vraagstelling: De onderzoekers willen normale muizen en muizen zonder LAIR-1 met virus of bacterie infecteren en onderzoeken of LAIR-1 een effect heeft op de verwijdering van deze pathogenen of dat LAIR-1 een effect heeft op de afweerrespons. Onderzocht wordt ook of het ontbreken van LAIR-1 invloed heeft op de normale ontwikkeling van het afweersysteem.

Titel studie: Regulation of intestinal inflammation and cancer development by CD200R signaling
DEC nummer: 2012.II.01.015

De invloed van de remmende eiwit CD200 op de regulatie van de darmontstekingen en darmkanker
Achtergrond: Verschillende auto-immuun ziektes, bijvoorbeeld inflammatoire darmziekten (in Engels Inflammatory Bowel Disease (IBD)) worden veroorzaakt door ongecontroleerde ontstekingen. De meest ernstige complicatie van IBD is de vorming van kanker. Daarom is het belangrijk om de immuunrespons streng te controleren. Het is niet bekend wat de oorzaak van deze ontsteking is of wat het onderliggende mechanisme is van de ontwikkeling van de ontsteking. Een van de mechanismen die verantwoordelijk is voor deze controle is de immuun remmende receptor zoals CD200R. In dit experiment wordt onderzocht of de muizen zonder actieve CD200R ernstiger darmontsteking hebben.
Doel/hypothese: CD200R reguleert de ontwikkeling van de darmontsteking en darmkanker.
Globale aanpak vraagstelling: Een uitgewerkt model van IBD bestaat uit het drinken van een wasmiddel (detergent) Dextran Sulfate Sodium (DSS) in het drinkwater gedurende vijf dagen. Na die eerste periode zullen de muizen worden gevolgd voor een extra week. Aan het einde van het experiment zullen de muizen worden geëuthanaseerd waarna de darmen en de milt zullen worden geanalyseerd.
In het kankerexperiment zullen de muizen een kanker opwekken middel (mutageen) (azoxymethaan (AOM)) krijgen. Vervolgens krijgen ze drie keer per week DSS in het drink water. Na drie maanden zullen de darmtumoren geteld worden.

Titel studie: An allogenetic pig mesenchymal stem cell line
DEC nummer: 2012.II.01.016

Een stamcellijn met varkenscellen
Achtergrond: Na een hartaanval ontwikkelt een deel van de patiënten hartfalen. Hartfalen is niet te genezen. Met behulp van stamcellen wordt geprobeerd de gevolgen van een hartinfarct te beperken. CellBeads zijn kraaltjes waarin deze stamcellen liggen opgeslagen. De CellBeads die op dit moment gebruikt worden in de varkensstudies, bevatten stamcellen van mensen. Deze stamcellen kunnen door een reactie van dieren antilichamen worden afgestoten. Het doel van dit onderzoek is een CellBead ontwikkelen met varkens stamcellen om zo deze afstotingsreactie te voorkomen en het effect van de stamcellen op het hartinfarct en hartfalen te bestuderen in varkens.
Doel/hypothese: Het ontwikkelen van een CellBead met stamcellen afkomstig van het varken.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek wordt een jong varken gedood waarna vanuit het bovenbeenbot stamcellen zullen worden geoogst. Een stamcel lijn met deze cellen bestaat nog niet in de wereld. Om deze cellijn op te zetten zijn de cellen van een donor noodzakelijk. Hiervoor is dus een varken nodig.

Titel studie: Immunisatie van konijnen met Lama immunoglobine fragmenten
DEC nummer: 2012.II.01.017

Polyklonaal serum tegen Lama zware keten antilichamen
Achtergrond: Cameliden (zoals Lama, kamelen en dromedarissen) beschikken over antilichamen met uitsluitend zware ketens. Als gevolg hiervan zijn de antigeen-bindende domeinen (VHH) zeer klein (~15 kDa), en lenen zich uitstekend voor manipulatie in vitro.
Doel/hypothese: Het verkregen van een polyklonaal serum tegen Lama VHHs. Uit een eerdere immunisatieproef (2009. III.08.064) bleek dat immunisatie van de konijnen met intact zware keten IgGs en Papain knip daarvan een serum met hoge anti-VHH titer geeft.
Globale aanpak vraagstelling: Het verkregen van een goed polyklonaal serum tegen Lama VHHs is alleen mogelijk door immunisatie en maturatie van deze antilichamen in een gewervelde dier. Uit een eerdere immunisatieproef (2009. III.08.064) bleek dat immunisatie van de konijnen met intact zware keten IgGs en Papain knip daarvan een serum met hoge anti-VHH titer geeft.

Titel studie: Allogene mesenchymale stamcel (MSC) retentie na Intra Myocardiale Injectie
DEC nummer: 2012.II.01.018

Stamceltransplantaten in een spier bij een chronische hartinfarct
Achtergrond: Na een hartinfarct is een deel van de hartspier afgestorven. Het kan daardoor ernstig verzwakt raken en een levensbedreigend falen van het hart kan ontstaan (30-50% kans).
Doel/hypothese: Het inbrengen van mesenchymale stamcellen leidt tot verbetering van de hartspierfunctie. De infusie van de stamcellen in de kransslagader leidt echter naar alle waarschijnlijkheid tot doorstromingsproblemen van het bloed en tot het niet bereiken van het beschadigd weefsel. Om te onderzoeken wat de meest effectieve manier van toedienen is, zal in een aantal dieren gepoogd worden in de spier MSC te injecteren via twee methoden.
Globale aanpak vraagstelling: In de huidige studie spuiten de onderzoekers stamcellen in de hartspier van een schaap. De onderzoekers zullen hiervoor twee verschillende katheters gebruiken en het effect van injectie van de stamcellen op de hart nauwkeurig vervolgen. Uiteindelijk zullen ze bepalen hoeveel cellen er vasthechten in het hart via radiolabeling.

Vergadering 15 februari 2012

Titel studie: Keuzevak immunofarmacologie
DEC nummer: 2012.II.02.020

Immunofarmacologie
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: In het keuzevak Immunofarmacologie maken studenten van de masterstudies Drug Innovation en Farmaceutische Wetenschappen kennis met het onderzoek binnen het vakgebied Immunofarmacologie. In het blok staat de rol van het afweersysteem in het ziektebeeld van chronische ontstekingsziekten centraal. Dit wordt duidelijk gemaakt d.m.v. overzichtsverhalen, opzoekopdrachten, presentaties over huidig onderzoek en het verkrijgen van praktische ervaring om kenmerken van allergische ontstekingsreacties te bepalen. Deze studenten vertegenwoordigen de toekomstige generatie geneesmiddelonderzoekers.
Globale aanpak onderwijselement: Een van de belangrijke pijlers in dit keuzevak is het geven van een introductie in het preklinisch geneesmiddelenonderzoek. De hoop is de studenten daarmee te motiveren en te enthousiasmeren voor deze onderzoeksrichting. In de dierexperimenten zullen de opleiders een demonstratie geven van belangrijke technieken om luchtwegfunctie te meten en een allergische reactie te bepalen. Vervolgens zullen weefsels (longwasvloeistof met ontstekingscellen, oortjes, luchtpijp) uit deze dieren geïsoleerd worden om m.b.v. diverse technieken de aantallen en activiteit van ontstekingscellen te kwantificeren.

Titel studie: Chronische nierfalen (CKD) in muis
DEC nummer: 2012.II.02.021

Chronisch nierfalen in muizen
Achtergrond: Bij chronisch nierfalen (CKD) vermindert de nierfunctie geleidelijk met als eindpunt transplantatie of dialyse. Zonder nierfunctievervanging is leven onmogelijk. Onderzoek heeft uitgewezen dat een hoog zout dieet, twee bloeddruk verhogende middelen (Ang II) en DOCA, het verwijderen van een nier, of een combinatie hiervan, bij muizen tot verhoogde bloeddruk en overmatig eiwit afscheiding in de urine kan leiden. Dit zijn bekende symptomen bij mensen met CKD. Dit muismodel voor CKD is cruciaal voor het verrichten van mechanistisch onderzoek.
Doel/hypothese: De hypothese is dat door de combinatie van een hoog zout dieet, een bloeddruk verhogend middel (Ang II) en DOCA en het verwijderen van een nier, er een relevant CKD model in muizen ontstaat.
Globale aanpak vraagstelling: In het experiment word chronisch nierfalen geïnduceerd door muizen een combinatie van hoog zout en DOCA en een bloeddruk verhogend middel (Ang II) te geven. Deze interventies worden gecombineerd met het verwijderen van 1 nier. Er zijn nog geen geschikte celkweek experimenten beschikbaar die dit model kunnen nabootsen.

Titel studie: Efficacy of S-norketotifen (SNORK) in the treatment of canine atopic dermatitis
DEC nummer: 2012.II.02.022

Het effect van S-norketotifen (SNORK) op de ontsteking en de jeuk bij honden met een huidallergie
Achtergrond: Atopische dermatitis (AD) is een genetisch beïnvloede huidallergie voor huisstofmijten. De aandoening heeft ernstige consequenties voor het welzijn en komt bij 10-15% van de honden voor. De allergie wordt manifest door een verstoring van het immuun(afweer)systeem en de doorlaatbaarheid van de huid voor allergenen (stoffen waar een dier allergisch voor kan worden). Bepaalde groepen cellen (T lymfocyten) oefenen hun functie niet meer optimaal uit. Bovendien produceren zogenaamde mestcellen in de huid allerlei stoffen (waaronder histamine) die verantwoordelijk

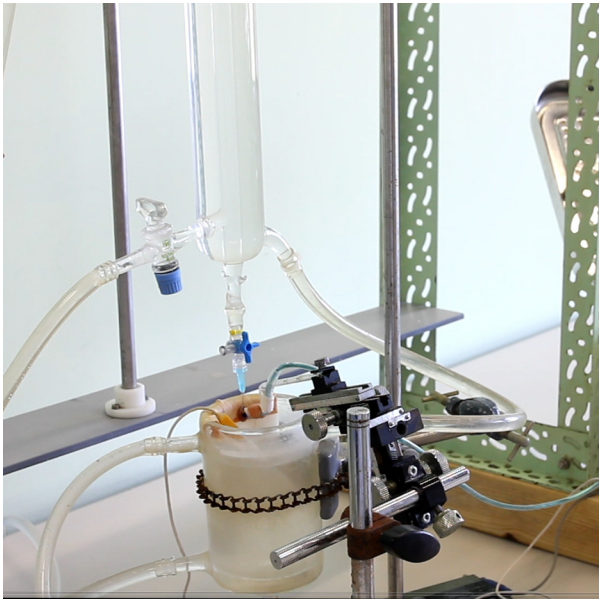
zijn voor de heftige jeuk, maar die ook bijdragen aan het in stand houden van de ontsteking.
Doel/hypothese: Het onderzoek richt zich op het blokkeren van stoffen uit mestcellen in de huid (met S-norketotifen/SNORK) en de gevolgen/vermindering van de huidontsteking en de jeuk bij deze honden met een allergie.
Globale aanpak vraagstelling: In een pilot studie (om aan te tonen dat het zinvol is een grotere studie uit te voeren) krijgen 5 honden met atopische dermatitis 2 mg/kg S-norketotifen hydrogen fumarate (SNORK) met het eten gedurende 28 dagen. Hierna worden ze nog 14 dagen vervolgd, maar krijgen ze geen medicijnen meer. In deze periode van 42 dagen wordt vooraf, tijdens en na afloop een allergietest uitgevoerd, wordt bloed afgenomen (om de concentratie van het medicijn te bepalen en om een goede indruk te krijgen van de algehele gezondheidstoestand van de honden), wordt met camera's de totale hoeveelheid tijd die besteed wordt aan krabben/likken (jeuk) geregistreerd en wordt aan de hand van een checklist de verandering van de huidontsteking gevolgd. Het feit dat circa 10-15 procent van alle honden te maken krijgt met een dergelijke allergie en de bestaande behandelingen regelmatig bijwerkingen vertonen of pas werken na lange tijd (hetgeen beiden niet wordt verwacht bij dit nieuwe medicijn), rechtvaardigt het huidige onderzoek. Er is geen laboratorium alternatief voorhanden om het effect van een medicijn op jeuk en huiduitslag bij allergie te onderzoeken.

Titel studie: Fok: Calcineurine overexpressie: GG2850, AC3-I overexpressie: GG2997
DEC nummer: 2012.II.02.023

Het doel van deze fok is om muizen te creëren die in het hart calcineurine tot overexpressie brengen en tevens een eiwit (AC3-I) maken dat CaMKII remt. Calcineurine overexpressie zal tot hartfalen leiden en tot elektrische geleidingsproblemen in het hart. Dit kan leiden tot ritmestoornissen. Er zijn indicaties dat CaMKII een rol speelt in dit pathologische proces, vooral bij de ritmestoornissen, maar helemaal duidelijk is dit niet. Dit wordt in dit onderzoek onderzocht
Maatschappelijk belang: Er is aangetoond dat ook in mensen CaMKII geactiveerd is bij hartfalen (waar ook calcineurine extra geactiveerd is). Daar komt nog bij dat hartfalen leidt tot een hogere gevoeligheid voor ritmestoornissen. Als de onderzoekers dus kunnen aantonen dat CaMKII remming tot minder ritmestoornissen leidt, is dat een potentieel aangrijpingspunt voor therapie.

Titel studie: CaMKII-afhankelijke aritmogeniteit in calcineurine-overexpressie muizen
DEC nummer: 2012.II.02.024

CaMKII-afhankelijke arritmogeniteit in calcineurine-overexpressie muizen
Achtergrond: Calcineurine is een eiwit dat in een hart met hartfalen meer aanwezig is dan in een gezond hart. Tevens is aangetoond dat te veel calcineurine zelf tot hartfalen en ritmestoornissen leidt. Eén van de eiwitten die in zo'n situatie meer actief wordt is CaMKII. Het zou heel goed kunnen dat de ritmestoornissen die gezien worden bij calcineurine overactivatie wel eens afhankelijk zouden kunnen zijn van CaMKII. Dit aangezien bekend is dat CaMKII elektrische stromen in het hart beïnvloedt, maar ook wel eens de elektrische geleiding in het hart zou kunnen remmen. Ritmestoornissen worden vaak veroorzaakt door verstoorde stromen of tragere geleiding.
Doel/hypothese: Hypothese: CaMKII remming zal hartritmestoornissen remmen in muizen met te veel calcineurine.
Globale aanpak vraagstelling: Door een muis met een te veel calcineurine(CAN) te kruisen met een muis met CaMKII remmend eiwit (AC3-I) komen er nakomelingen ter wereld die extra veel calcineurine hebben én CaMKII remmen (CAN*AC3-I). Omdat zowel de CAN en de AC3-I muis heterozygoot zijn (dat wil zeggen: één DNA-streng met het gen dat zorgt voor te veel calcineurine of voor AC3-I en één streng met het normale, wildtype (WT) gen), zijn de nakomelingen als volgt verdeeld: 25% WT, 25% CAN, 25% AC3-I, 25% CAN*AC3-I. Dat zijn precies de groepen die de onderzoekers nodig hebben. Op een leeftijd van 4 weken na de geboorte worden de muizen onder anesthesie gebracht en wordt vervolgens het hart verwijderd.



Eenmaal verwijderd wordt het hart aan een Langendorff perfusie opstelling (een opstelling die het hart buiten het lichaam in leven kan houden) gehangen, zodat de onderzoekers de geleidingsnelheid en ritmestoornissen kunnen bepalen. Ook willen ze enkele harten gebruiken voor verder onderzoek naar de aanwezigheid van bepaalde eiwitten (zoals calcineurine en CaMKII).

Langendorff perfusie met een muizenhartje.

Titel studie:The role of exosomes after intramuscular injection in arteriogenesis
DEC nummer: 2012.II.02.025

Het effect van cel blaasjes (exosomen) op vaatgroei en weefseldoorbloeding na lokale toediening in de spier
Achtergrond: Aanmaak van nieuwe vaten (neovascularisatie) kan in het geval van een slagaderafsluiting zorgen voor het redden van de zuurstof- en voedingsstoffentoevoer naar het achterliggende weefsel. Circulerende cellen in het lichaam zijn in staat kleine blaasjes (exosomen) af te scheiden in het bloed om elders in het lichaam weer een effect te veroorzaken. Uit eerder onderzoek is gebleken dat deze exosomen factoren bevatten die lokaal kunnen inspelen op de ontstekingsprocessen en deze kunnen onderdrukken. Ontsteking en ontstekingscellen spelen een cruciale rol in het proces van neovascularisatie. In dit onderzoek willen we de effecten van het lokaal inspuiten van deze exosomen onderzoeken in een diermodel voor neovascularisatie.
Doel/hypothese: Het doel is het onderzoeken van de effecten van lokale toediening van exosomen in de spier op de lokale vaatgroei en herstel van de doorbloeding in muizen na het afsluiten van de slagader in de achterpoot. De hypothese luidt dat het lokaal toedienen van de exosomen in de spier na de slagaderafsluiting leidt tot een geremde neovascularisatie en verminderde doorbloeding van de achterpoot.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen zullen een afgebonden beenslagader krijgen aan de rechterkant waarna er nieuwe vaten aangemaakt worden door het gebrek aan zuurstof in het achterliggende weefsel. In de behandelgroep zullen de muizen lokaal exosomen geïnjecteerd krijgen in de bovenste beenspier en in de controlegroep zullen de muizen een placebo geïnjecteerd krijgen in de bovenste beenspier. Op 2 verschillende tijdstippen zal gekeken worden of de aanmaak van nieuwe vaten en doorbloeding verandert na het injecteren van exosomen ten opzichte van de placebo groep die een controle vloeistof geïnjecteerd krijgt. Het weefsel zal na de behandeling onderzocht worden op factoren die betrokken

zijn bij neovascularisatie. Deze muizen herstellen goed van de operatie en bij het gebruik van deze dieren kunnen we goed materiaal verzamelen (spierweefsel, bloed en beenmergcellen) voor het volledig onderzoeken van het mechanisme dat heeft plaatsgevonden.

Titel studie: Direct and indirect ways how mast cells regulate immune response
DEC nummer: 2012.II.02.026

Directe en indirecte mestcel gemedieerde immuun tolerantie
Achtergrond: De sterkte van afweerreacties moet goed gereguleerd zijn, om schade aan gezond weefsel te voorkomen. Het is nog steeds onduidelijk hoe afweerreacties gereguleerd worden. We weten dat bepaalde celtypen, zoals mestcellen en regulatoire T-cellen, hierin een belangrijke rol spelen, maar wat deze cellen precies doen en of en hoe ze elkaars werking beïnvloeden, is onbekend. Wij hebben gevonden dat mestcellen afweerreacties op twee verschillende manieren kunnen beïnvloeden, op een directe - als wel op een indirecte manier, door de functie van regulatoire T cellen te versterken.
Doel/hypothese: Onze hypothese is dat mestcellen i) een goed gekarakteriseerde factor gebruiken om afweerreacties op een directe manier (zonder tussenkomst van andere cellen) te beïnvloeden, en ii) dat mestcellen om een afweerreactie te remmen van de plaats van ontsteking naar de lymfeklier moeten migreren.
Globale aanpak vraagstelling: Wij willen muizen gebruiken, die geen mestcellen hebben, maar ingespoten zijn met in vitro gedifferentieerde, gemanipuleerde mestcellen. In deze muizen willen we, gebruik makend van een standaard protocol waarin ontstekings-veroorzakende T cellen en regulatoire T cellen ingespoten worden, een milde vorm van darmontsteking op wekken. Aan de mate waarin darmontsteking tot stand komt kunnen we aflezen in hoeverre de diverse mestcellen in staat zijn om darmontsteking te onderdrukken.

Titel studie: Dissecting molecular mechanism that determine the functional capacity of regulatory T-cells in vivo - TAK1 pathway
DEC nummer: 2012.II.02.027

Cellulaire mechanismen die de activiteit van regulatoire T cellen reguleren
Achtergrond: De sterkte van afweerreacties wordt door zogenaamde regulatoire T cellen gereguleerd. Wij hebben ontdekt dat de activiteit van de regulatoire T cel zelf door modificatie van het FOXP3 eiwit beïnvloed wordt.
Doel/hypothese: Onze hypothese is dat signalen, die door bepaalde cellulaire signaaltransductie routes doorgegeven worden, tot modificatie van FOXP3 leiden en daardoor de regulerende functie van regulatoire T cellen beïnvloeden.
Globale aanpak vraagstelling: We hebben in vitro gezien dat signalen, die regulatoire T cellen via bepaalde signaaltransductie routes ontvangen, hun regulerende functie veranderen. Om te zien of deze effecten in vivo van belang zijn, maken we gebruik van een model dat berust op “T cel transfer geïnduceerde darmontsteking (colitis)”. In dit model worden colitis veroorzakende T cellen samen met regulatoire T cellen in een muis, die zelf geen T cellen bezit, getransfereerd. We willen de regulatoire T cellen in vitro manipuleren, om bepaalde signaaltransductie routes aan of uit te schakelen. Gekeken wordt dan in hoeverre deze regulatoire T cellen nog in staat zijn om colitis te verhinderen. We hopen hiermee ons inzicht in de regulatie van regulatoire T cel functie te vergroten. Dit kan leiden tot nieuwe therapeutische mogelijkheden voor ziektes waarin regulatoire T cellen een ziekteversterkende of -verminderende rol spelen. Aangezien afweerreacties heel complex zijn moeten dit soort “proof of principle” proeven in muizen uitgevoerd worden.

Titel studie: Pilotstudie ter ontwikkeling van een diermodel voor eosinofiele oesofagitis
DEC nummer: 2012.II.02.028

De relatie tussen eosinofiele oesofagitis en voedselallergie: mogelijkheden van nutritioneel ziektemanagement
Achtergrond: Eosinofiele oesofagitis is een allergische aandoening van de slokdarm, waarbij de patiënt last heeft van misselijkheid, maag- en buikpijn en slikstoornissen. Door verbeterde herkenning van de ziekte in de afgelopen 10 jaar is gebleken dat het een groter wordend probleem in de samenleving is. Om behandelingen voor deze aandoening te ontwikkelen, is het nodig om een diermodel te ontwikkelen voor EoE. Dit onderzoek kan niet in de mens gedaan worden, omdat het nodig is om immunologische veranderingen in de slokdarm te meten.
Doel/hypothese: Het doel van het onderzoek is het opzetten van een geschikt model voor EoE.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek worden twee methoden toegepast waarbij BALB/c muizen gevoelig worden gemaakt (sensitisatie) voor een allergeen (eiwit), epicutaan (via de huid) en intraperitoneaal (via de buikholte) . Daarnaast zal ook de cavia gebruikt worden als diermodel, deze wordt intraperioneaal gevoelig gemaakt. De inzet van proefdieren is noodzakelijk, omdat er biopten (stukjes weefsel) genomen moeten worden van de slokdarm. Deze biopten zijn nodig voor het begrip van de ontwikkeling van de ziekte en voor mogelijke therapeutische aangrijpingspunten. Deze biopten kunnen moeilijk in mensen genomen worden.

Titel studie: The influence of immunoproteasomes on the development of autoimmune diseases
DEC nummer: 2012.II.02.029

De invloed van de cellulaire eiwitafbraak machinerie op het ontstaan van chronische ontstekingsziekten zoals de ziekte van Crohn
Achtergrond: Er lopen in Europa miljoenen mensen rond die leiden aan chronische ontstekingen. Zo zijn er al rond de 2,2 miljoen mensen met ontstekingsklachten van hun darmen, zoals colitis ulcerosa en de ziekte van Crohn (=IBD). Zij hebben onder andere last van buikkrampen, diarree en gewichtsverlies waardoor hun levenskwaliteit ernstig wordt belemmerd. Momenteel bestaat hiervoor nog geen genezende therapie en ook de precieze ontstaanswijze van de ziekte is nog onbekend. Elke cel bezit een zo te noemen standaard afbraakmechanisme (het proteasoom) dat eiwitten die zich in de cel bevinden verwijdert, door ze in stukjes te knippen. Nu is uit onderzoek gebleken dat de aanwezigheid van bepaalde specifieke onderdelen van het proteasoom mogelijk de ernst van ontstekingsreacties versterken.
Doel/hypothese: We willen middels dit onderzoek bevestigen dat de samenstelling van het proteasoom de ernst van ontstekingsreacties kan beïnvloeden. Verder willen we onderzoeken in welke cel de proteasoom samenstelling van belang is, dus, in de cellen waartegen de reactie plaats vindt, in de cellen die de ontsteking veroorzaken of in regulerende cellen, die ontstekingsreacties normaliter afzwakken.
Globale aanpak vraagstelling: We hebben muizen in fok waarbij we een (relatief milde) darmontsteking kunnen opwekken, door het inspuiten van afweercellen. We hebben ook een variant van deze muizen, namelijk muizen waarbij de bovengenoemde specifieke proteasoom onderdelen ontbreken. Nu willen we kijken of we in deze muizen nog wel darmontstekingen kunnen opwekken door afweercellen in te spuiten en of de ernst van de darmontstekingen vergelijkbaar is met die van de muizen die deze onderdelen wel bezitten. Verder willen we kijken of de afweercellen van de muizen die de specifieke onderdelen missen wel instaat zijn om een darmontsteking op te wekken. Tevens willen we nagaan of de cellen die normaliter onze afweer reguleren in staat zijn de ontstekingen te remmen.

Titel studie: Training muis myocard infarct model
DEC nummer: 2012.II.02.030

Training muis myocardinfarct model
Achtergrond: Gezien de hoge incidentie van hartfalen in de westerse wereld, vaak ten gevolge van een hartinfarct, en de beperkte behandelingsmogelijkheden is het belangrijk dat onderzoek plaatsvindt naar nieuwe therapieën. Het gebruik van het muis myocard infarct model heeft een grote rol in verschillende projecten die trachten te begrijpen wat er gebeurt na een myocard infarct. Wanneer men het proces beter begrijpt kan daaruit voor de patiënt een betere genezing gedestilleerd worden. Doel is om beginnende onderzoekers op te leiden, zodat zij zelfstandig het muis myocardinfarct kunnen toepassen in hun onderzoek.
Doel/hypothese: Onder begeleiding aanleren van de micro-chirurgische operatie om een myocard infarct te induceren in een levende muis. Deze muis kan, indien de operateur voldoende vaardigheid heeft, maximaal 7 dagen worden gevolgd om zo de kwaliteit van de operatie (sterfte als indicator) te monitoren. In eerste instantie zal de muis direct worden geteremineerd na afloop van de operatie, als deze nog onder narcose is.
Globale aanpak vraagstelling: Al het onderzoek in het lab van de experimentele cardiologie is erop gericht om het ontstaan en de progressie van cardiovasculaire ziekten bij mensen tegen te gaan. Om inzicht te krijgen in het verloop van een myocard infarct en om potentiele therapieën te kunnen onderzoeken, is het noodzakelijk om goed getraind te zijn in het induceren van een myocard infarct bij muizen. Uit onze jarenlange ervaring met het aanleren van een myocard infarct bij muizen is gebleken dat 30 dieren noodzakelijk zijn om deze operatie goed uit te kunnen voeren. Gezien het belang van het onderzoek, kwalificeren wij het verwachte ongerief van de muizen als acceptabel.

Titel studie: Karakterisatie van fluorescente reportereiwitten in hartspiercellen
DEC nummer: 2012.II.02.031

Fysiologie van hartspiercellen in beeld gebracht met fluorescente eiwitten
Achtergrond: Het vermoeden bestaat dat calcium in de celkern een rol heeft speelt bij het ontstaan van hartziekten, maar er is vrijwel niets bekend over de dynamiek van de calciumhuishouding in deze celkernen. We proberen hier meer inzicht in te krijgen ten einde nieuwe therapeutische strategieën te ontdekken.
Doel/hypothese: Inzicht krijgen in de fluorescente eigenschappen van het calciumsensoreiwitten GCaMP3 en VSFP in het cellichaam en de celkern van hartspiercellen als ook de celmembraan die de cel omhult.
Globale aanpak vraagstelling: Om de eigenschappen van sensoreiwitten te bestuderen hebben we hartspiercellen nodig. Andere celtypen of cellijnen voldoen niet voor deze vraagstelling. Nadat het proefdier (muis of rat) is gedood zal het hart worden verwijderd. Uit de hartjes zullen hartspiercellen worden geïsoleerd die vervolgens gebruikt worden voor de experimenten.

Titel studie: The Role of the transcription factor Nrf2 in angiogenesis
DEC nummer: 2012.II.02.032

De rol van Nrf2 in vaatnieuwvorming
Achtergrond: Endotheel voorloper cellen (EPCs) zijn cellen die nieuwe vaten kunnen vormen in het volwassen lichaam. Deze cellen kunnen therapeutisch worden toegepast door ze in een beschadigd vat te injecteren of ze kunnen gebruikt worden om de vaten in kunstmatig weefsel te vormen. De implantatie van de cellen in een ziek lichaam of ziek weefsel stelt hen echter bloot aan een schadelijke omgeving, vol giftige afbraakproducten van het zieke lichaam. Met name bepaalde zuurstofverbindingen zijn problematisch en veroorzaken zgn. oxidatieve stress bij de cellen. Alle cellen hebben

afweermechanismen tegen oxidatieve stress, die door één schakelaar - de transcriptie factor Nrf2 - worden gereguleerd. Veranderingen in de werking van Nrf2 kunnen grote effecten hebben op de mogelijkheid tot vaatvernieuwing met behulp van endotheel voorloper cellen.
Doel/hypothese: Wij willen onderzoeken of modulatie van Nrf2 (activatie of remming) in EPCs de vaatvernieuwing beïnvloedt in een muismodel.
Globale aanpak vraagstelling: Menselijke EPCs worden gemodificeerd door kleine stukjes DNA in te brengen met een bepaald soort virus (lentivirussen). Dit met het doel om Nrf2 te onderdrukken of te activeren. Deze cellen worden vervolgens opgenomen in een bepaalde gel (matrigel) die hen signalen geeft om vaten te vormen. De matrigel wordt onderhuids ingebracht in een muis. Normaliter gaan de cellen zich dan organiseren en vormen een simpel vaatbed dat aansluit op de vaten van de muis. Wij willen onderzoeken of dit proces afwezig is als wij Nrf2 onderdrukken en of het toegenomen is als wij Nrf2 activeren.

Titel studie: Determining the in vivo rate and degree of transport of recombinant IgA antibodies across mucosal surfaces in mice
DEC nummer: 2012.II.02.033

Vergelijking van recombinant antistof transport naar de slijmvliezen in muizen
Achtergrond: Antistoftherapie is een nieuwe behandelingsmethode voor o.a. kankerpatiënten en patiënten met infectieziekten. Er bestaan 5 soorten antistoffen: IgM, IgD, IgG, IgA en IgE. In de mens is IgG het meest voorkomende antistof in het bloed. Bij de slijmvliezen echter, komt IgA het meeste voor. Op dit moment zijn alle goedgekeurde therapeutische antistoffen van het IgG isotype. Dit komt doordat IgG makkelijker te produceren is vergeleken met bv. IgA, en omdat IgG antistoffen het meest stabiel zijn in bloed. Wij zijn geïnteresseerd in de afweer tegen pathogenen die via de slijmvliezen ons lichaam willen binnendringen. IgA speelt hierbij een belangrijke rol om deze binnendringers tegen te houden. Daarom willen wij zelf samengestelde IgA antistoffen onderzoeken voor therapeutisch gebruik. Maar eerst willen wij natuurlijk weten of de door ons geproduceerde IgA antistoffen ook echt bij de slijmvliezen terecht komen.
Doel/hypothese: Inzicht vergaren in de mate en snelheid van transport van recombinant antistoffen naar de slijmvliezen in muizen. Aangezien de muis, vergelijkbaar met de mens, een receptor (pIgR) heeft voor de transport van IgA naar slijmvliezen, verwachten wij een hogere concentratie van IgA vergeleken met IgG terug te vinden bij de slijmvliezen.
Globale aanpak vraagstelling: Wij gaan verschillende typen IgA en IgG antistoffen aan muizen toedienen. Op verschillende tijdspunten zullen wij bloed, urine, poep en longvloeistof collecteren om de concentratie van antistof in deze monsters te bepalen.

Titel studie: Bepalen van de immunodominantie hiërarchie na peptide vaccinatie
DEC nummer: 2012.II.02.034

Het vergelijken van de mate van bescherming die vaccinatie met verschillende griepvirus eiwitfragmenten biedt tegen een griepvirus infectie
Achtergrond: Er zijn nog veel ziekteverwekkers die tot ernstige ziektes leiden, waarvoor nog geen vaccins zijn ontwikkeld. Nu willen we nieuwe veiligere vaccinatie strategieën ontwikkelen die tevens effectiever zijn. We testen nu hoe effectief verschillende griepvirus eiwit fragmenten zijn als onderdeel van een vaccin. Het griepvirus wordt hier als een model gebruikt. Virus geïnfecteerde cellen knippen geproduceerde viruseiwitten in fragmenten en laten vervolgens deze fragmenten zien aan hun cel oppervlak. Hierdoor worden deze cellen herkend door specifieke, naar enkele van deze fragmenten patrouillerende cellen. Deze cellen moeten echter eerst geactiveerd worden. Deze activatie komt tot stand door contact met zogenaamde dendrieten. Dit is een specifieke cel soort die de virale fragmenten aan de patrouillerende

cellen presenteert. De eiwitfragmenten die als eerste op de dendriet worden gepresenteerd hebben de meeste kans van slagen om ook daadwerkelijk deze toekomstige patrouillerende cellen te activeren.
Doel/hypothese: Het uiteindelijk doel van dit project is om een nieuwe vaccinatie strategie te ontwikkelen, berustend op snelle presentatie van virale fragmenten door een dendriet. Hiermee wordt het hopelijk mogelijk (doel) om ook tegen de vele ernstige ziekteverwekkers waarvoor nu nog geen vaccins bestaan wel vaccins te ontwikkelen.
Globale aanpak vraagstelling: Bij onze afweer tegen ziekteverwekkers spelen vele verschillende celtypen, organen en complexe interacties een rol. Hiervoor bestaan nog geen testsystemen of computermodellen etc., mede omdat veel nog niet bekend is. Bij de mens kunnen we dit onderzoek niet doen doordat we ook organen isoleren die een rol spelen in onze afweer. Wij testen verschillende eiwitfragmenten op hun effectiviteit bij het induceren van een beschermende afweerreactie als onderdeel van een vaccin (welke effectiever of minder effectief zijn). Om dit nu te bereiken gaan wij gespecialiseerde presenterende cellen (dendrieten) uit beenmerg (van donormuizen die hiervoor worden opgeofferd) kweken in het laboratorium en beladen deze met de verschillende fragmenten van griepvirus eiwitten. Doordat we de dendrieten voor alle fragmenten gelijktijdig inspuiten in de muis, halen we het verschil in effectiviteit weg die ontstaat als de ene eerder gepresenteerd wordt dan de andere fragmenten (zoals na infectie). Deze gekweekte cellen spuiten we in een bloedvat (injectie) van de muis (dit is een vorm vaccinatie) en na 3 weken laten we de muizen het griepvirus zelf inademen. Na vervolgens 6 dagen gaan we de opgeroepen afweerreactie van de muis tegen het virus onderzoeken, hiervoor moeten de muizen worden gedood. We vergelijken de resultaten onderling.

Titel studie: Backup for nitric oxide in chronic kidney disease by hydrogen sulfide
DEC nummer: 2012.II.02.035

De backup van stikstofmonoxide tijdens chronische nierfalen door Waterstofsulfide
Achtergrond: Chronische nierfalen is geassocieerd met verminderde beschikbaarheid van stikstof monoxide (NO) dat bijzonder belangrijk is in de bescherming van organen tegen schade. Onze studies toonden aan dat NO afname altijd leidt tot nierschade. Verder vonden we ook dat waterstofsulfide (H2S) en koolstofmonoxide (CO) een rol kunnen spelen tijdens NO afname. De kennis over H2S en CO in de nier is nog gebrekkig. We vonden echter dat H2S productie afremt tijdens NO afname, het ontstaan van nierschade voorkomt en dat CO mogelijk hiermee te maken heeft. Dit stimuleert ons om extra gericht dieronderzoek te doen naar de rol van H2S en CO in de bescherming van de nier tijdens verminderde NO beschikbaarheid. Hiermee hopen we het mechanisme beter te begrijpen.
Doel/hypothese: De originele hypothese was: H2S functioneert als back-up voor NO. Als de back-up H2S tijdens verlaagde NO of tijdens chronische nierfalen wordt ondersteund of gestimuleerd, dan wordt de progressie van nierschade vertraagd of mogelijkerwijs stopgezet. Op grond van onze nieuwe data is de nieuwe hypothese dat als NO afgenomen is, dat H2S, en mogelijk ook CO, een ander beschermend systeem uitschakelen.
Globale aanpak vraagstelling: In het vorige dierexperiment werd NO afname uitgevoerd in combinatie met andere medicaties. Namelijk de afname van NO en H2S (NO+H2S-afname). Ook werd alleen H2S afgenomen. Nu zijn extra combinaties van afnames nodig. Namelijk: 1. NO+CO-afname (vermindering van NO en CO) 2. NO+H2S+CO-afname (vermindering van NO, H2S en CO) en
3. H2S+CO-afname (vermindering van H2S en CO). Uit opzet 1 en 2 kan het belang van de rol van CO tijdens NO(+H2S) afname worden onderzocht. Uit opzet 3 kunnen we het belang van NO voor nier-gezondheid onderzoeken. De studies zullen worden verricht in Sprague Dawley ratten. Deze stam is gevoelig voor de behandelingen die we geven. Ook de literatuur en onze studies hebben vaak aangetoond dat met name Sprague Dawley ratten geschikt zijn als diermodel voor patiënten met nierfalen. Deze ratten zullen dus een combinatie van medicijnen krijgen als hierboven weer-

gegeven (de drie opzetten). Omdat dit onderzoek in het belang is voor patiënten met nierfalen, zijn daarvoor volledige nieren met hun complexe circulerend systeem nodig. Helaas is er nog geen alternatief beschikbaar die het niersysteem volledig in al zijn complexiteit kan vervangen.

Titel studie: Vaccinatie van SPF en commerciële vleeskuikens in ovo met NHC-vaccin
DEC nummer: 2012.II.02.036

Bestrijding van Campylobacter bij vleeskuikens door vaccinatie
Achtergrond: Jaarlijks lopen in NL (en wereldwijd) veel mensen (80.000 in NL) een Campylobacter infectie op, veelal door het eten van besmet pluimveevlees. Hierdoor krijgen mensen diarree en de infectie kan tot complicaties leiden na de diarree fase (gewrichtsaandoeningen, zenuwverschijnselen en het gevoelige darm syndroom). Pluimvee is in de darm vaak besmet met Campylobacter en tijdens de slacht raakt het vlees besmet. De mens raakt besmet via dit besmette pluimveevlees. Het is een wereldwijd probleem waarvoor geen goede oplossing voor handen is. Vaccinatie zou één van de opties zijn. Dit project richt zich op het voorkomen van besmetting van vleeskuikens door vaccinatie van het kuiken in het ei zodat de kans klein is dat deze nog besmet wordt met Campylobacter.
Doel/hypothese: Er is een potentieel vaccin dat pluimvee beschermt tegen een Campylobacterinfectie. Dit vaccin willen we testen. We kijken naar antistof-vorming in het bloed van de kippen en naar de bescherming tegen een besmetting met Campylobacter.
Globale aanpak vraagstelling: De eieren met kuikens worden na 18 dagen bebroeden (3 dagen voor uitkomst) gevaccineerd (door de eischaal). Na uitkomst van de eieren (21 dagen) worden de kuikens in groepen gehuisvest en op 10 dagen en 17 dagen wordt bloed afgenomen van de dieren. De dieren worden op 17 dagen besmet met Campylobacter door 0,5 ml vloeistof met Campylobacter via de snavel te geven. De dieren ondervinden hiervan geen nadelige gevolgen. Na 22 dagen worden de dieren geëuthanaseerd en wordt het aantal Campylobacter bacteriën in de darm bepaald (maat voor effectiviteit van vaccinatie). De bloedmonsters worden gebruikt om de hoeveelheid antistoffen tegen Campylobacter te bepalen. Het deel van het onderzoek dat in het laboratorium mogelijk was is reeds met goed gevolg uitgevoerd. Of het daadwerkelijk werkt in kippen kan alleen met kippen worden getest.

Titel studie: Proof of Concept of Interventional Vascular Access Solution (IVAS) for Long term Ambulant Ventilator System (iLA)
DEC nummer: 2012.II.02.037

Lange termijn Ambulante Kunstlong Voorziening
Achtergrond: COPD (longemfyseem of astma) is een langzaam verergerde longaandoening. Meer dan 600 miljoen mensen wereldwijd lijden aan COPD, waarvan meer dan 6 miljoen een zeer ernstige vorm hebben ofwel ‘falende longen’. COPD is dan ook wereldwijd nummer 3 van doodsoorzaken. Patiënten met snel falende longen kunnen alleen geholpen worden door ze of (1) een long transplantatie te laten ondergaan (helaas overlijden heel veel patiënten wachtend op nieuwe longen omdat die te weinig beschikbaar komen) of (2) tijdelijke te koppelen aan een kunstlong. De kunstlong wordt dan tijdelijk verbonden aan de (slag-)aders van de patiënt om zo het bloed van zuurstof te voorzien. Momenteel is deze koppeling zodanig van aard dat er een hoge kans is op ontsteking en zelfs van accidentele ontkoppeling van de slangen met desastreuze gevolgen voor de patiënt. Dit betekent dat kunstlong therapie momenteel van tijdelijke aard is (maximaal 3 weken) en dat de patiënt gedurende deze periode aan bed gekluisterd is. Deze patiënten categorie zou enorme baat hebben bij langdurige kunstlong ondersteuning maar dit kan alleen als de koppeling met de (slag-) aders beter en veiliger (zonder hechtingen) zou worden (met de mogelijk om te lopen ed.). In zo’n geval zouden deze patiënten zelfs helemaal beter kunnen worden of in aanmerking kunnen komen voor daadwerkelijk een longtransplantatie (zonder te overlijden wachtend op nieuwe longen) of aan de kunstlong verder kunnen leven.

Doel/hypothese: Het doel van de dierproef is de toepasbaarheid en veiligheid van de vaatconnector te testen voor een kunstlong koppeling voor de lange duur.
Globale aanpak vraagstelling: Er wordt per varken een viertal vaatverbindingen tussen het proefdier en de kunstlong gemaakt met de hechtingloze vaatconnector. De toepasbaarheid en veiligheid wordt geëvalueerd en aan het eind van de proef/operatie wordt het dier - nog volledig onder narcose - geëuthanaseerd. De inzet van proefdieren is noodzakelijk omdat het vaatweefsel qua bouw en anatomie heel erg lijkt op dat van een mens, tevens zijn het stollingssysteem en de reactie van de vaatwand enkel in een levend model te testen. Het varken is voor dit onderzoek het meest ideale en noodzakelijke preklinische testmodel.

Titel studie: Het effect van niet-verteerbare oligosacchariden op activatie en functie van dendritische cellen in de lamina propria
DEC nummer: 2012.II.02.038

Het effect van niet-verteerbare suikers (prebiotica) op activatie en functie van immuuncellen in de darmen
Achtergrond: Het aantal voedselallergie patiënten neemt steeds verder toe. Aangezien het vermijden van allergenen (stoffen die een allergie kunnen opwekken, bv. koemelk of kippeneiwit) in voeding de enige mogelijke behandeling is, is er veel belangstelling voor therapieën die voedselallergie kunnen voorkomen of behandelen. Om de ontwikkeling van voedselallergie en de werkingsmechanismen van niet-verteerbare suikers (scGOS/lcFOS) te testen, is er een muismodel voor voedselallergie ontwikkeld. In dit muismodel zijn sterke aanwijzingen gevonden dat scGOS/lcFOS de overmatige immuunreactie tegen allergenen in de darmen kunnen verminderen (tolerantie inductie) en daardoor symptomen van voedselallergie kan voorkomen. We hebben eerder aangetoond dat galectin-9 een cruciale rol speelt in dit proces. Zeer recentelijk is ontdekt dat in een voedselallergie model met het allergeen ovalbumine (kippeneiwit) een ovalbumine-specifieke immuunrespons kan worden gemeten. Verder onderzoek van deze ovalbumine-specifieke immuun respons kan mogelijk leiden tot nieuwe inzichten in het ontstaan van voedselallergie en tot de ontwikkeling van een therapie ter voorkoming en/of behandeling van voedselallergie door niet-verteerbare suikers.
Doel/hypothese: scGOS/lcFOS kan in kweken met humane immuuncellen de activatie van immuuncellen verminderen. Recent hebben wij gevonden dat eenzelfde mechanisme ook lokaal in de darmen optreedt wanneer muizen een dieet krijgen die niet-verteerbare suikers bevat. Het doel van dit onderzoek is de functie van de immuuncellen lokaal in de darmen verder te onderzoeken en te kijken of het dieet, via het verlagen van de activatie van immuuncellen, de ontwikkeling van een allergische respons kan onderdrukken.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden gevoelig gemaakt (gesensitiseerd) voor het allergeen ovalbumine, het eiwit dat verantwoordelijk is voor voedselallergie tegen kippeneiwit en al dan niet op dieet gezet dat niet-verteerbare suikers bevat. In een deelexperiment wordt na sensitisatie vanuit voorlopercellen in het beenmerg dendritische cellen (cellen die allergenen herkennen, opnemen en aanbieden aan het immuunsysteem om een afweerreactie op gang te brengen) opgekweekt in aanwezigheid van galectin-9 en bestudeerd op de activatie status en functie (bijvoorbeeld productie van ontstekingsmoleculen of het aansturen van een afweer respons). Daarnaast wordt in een volgend deelexperiment muizen na sensitisatie blootgesteld aan ovalbumine om vervolgens dendritische cellen uit de darmwand te isoleren om de functie van deze cellen te bestuderen. Hierbij zal ook gekeken worden naar productie van immunologische signaalmoleculen door deze dendritische cellen en het aansturen van immuunresponsen. Deze interacties zijn niet in een celkweek systeem na te bootsen, vanwege de grote complexiteit van interacties van immuuncellen in de darmen. Tevens vindt er migratie van voorlopercellen uit het beenmerg naar de darmen plaats voor de ontwikkeling van dendritische cellen. Ook dit is helaas niet na te bootsen in een celkweek systeem.

Titel studie: Proarrhythmische effecten van dehydroevodiamine (DHE): een pilot studie
DEC nummer: 2012.II.02.039

Proarrhythmische effecten van dehydroevodiamine (DHE): een pilot studie
Achtergrond: Torsades de Pointes (TdP), een ernstige en potentieel levensbedreigende hartritmestoornis, is een gevaarlijke bijwerking die kan optreden bij het gebruik van diverse medicijnen. Voorafgaand aan deze hartritmestoornis wordt op het ECG een verlengd QT interval waargenomen, daarom is een verlengd QT interval een risicofactor voor TdP. Het konijn (onder narcose) is een geschikt en algemeen geaccepteerd diermodel waarin getest kan worden of medicamenten de QT tijd verlengen en het risico op TdP verhogen. In deze pilot studie zal worden bepaald of de plantaardige stof dehydroevodiamine, wat veel in homeopathische en Chinese geneesmiddelen voorkomt, de QT tijd verlengt en mogelijk TdP kan veroorzaken.
Doel/hypothese: Onderzoeken of dehydroevodiamine de QT verlengt en hartritmestoornissen kan veroorzaken.
Globale aanpak vraagstelling: Aritmieën zijn een complexe uiting van meerdere factoren zowel op cellulair niveau als op de elektrische geleiding van het gehele hart in vivo. Daarom is het belangrijk dat pro-aritmische effecten van drugs in vivo wordt getest in een geschikt diermodel. Omdat het elektrische systeem van het konijnenhart erg veel lijkt op die van de mens, is het geanestheseerde konijn een geschikt diermodel. Deze konijnen zullen behandeld worden met verschillende doseringen dehydroevodiamine. Aan de hand hiervan kan bepaald worden deze stof mogelijk proarrhytmische effecten heeft en verder getest moet worden.

Titel studie: Karakterisering van virale envelope eiwitten, die zijn betrokken bij reversibele aanhechting aan siaalzuur-receptor determinanten
DEC nummer: 2012.II.02.040

De zoete inval: suikers als virusreceptoren
Achtergrond: Cellen zijn bedekt met een woud aan suikerketens, veelal met siaalzuur als laatste groep. Veel virussen hechten aan hun gastheercel door te binden aan siaalzuur. Deze suikers komen echter in grote verscheidenheid voor en het is dus lastig om te bepalen welk exact suikertype door een bepaald virus wordt gebruikt. Wij bestuderen hoe een bepaalde familie van virussen, de coronavirussen, waartoe o.a. het menselijke pathogeen SARS behoort, deze suikers gebruiken om de gastheercel binnen te dringen.
Doel/hypothese: Ons doel is te onderzoeken hoe virussen onderscheid maken tussen verschillende soorten siaalzuur en wat hier de biologische relevantie van is.
Globale aanpak vraagstelling: De ratten worden verdoofd en bloed wordt afgenomen middels hartpunctie, de rat wordt hierbij geëuthanaseerd. De rode bloedcellen die we isoleren uit het bloed gebruiken we om de binding van virale eiwitten aan siaalzuur te bestuderen. Helaas bestaan er geen alternatieven voor dit experiment omdat men niet in staat is de specifieke suikers die zich bevinden op de rode bloedcellen van ratten in voldoende hoeveelheden te produceren.

Vergadering 21 maart 2012

Titel studie: “Optimalisatie van een chronische astma model en luchtwegweerstand meting in een muizenmodel”
DEC nummer: 2012.II.03.041

Optimalisatie van een door ovalbumine (OVA) chronische astma model en luchtwegweerstand meting in een muizenmodel
Achtergrond: Astma is een chronische ontstekingsziekte van de luchtwegen. Met name kinderen, maar ook volwassenen lijden aan deze ziekten en krijgen het periodiek benauwd doordat de luchtwegen samentrekken. Bij mensen die geen astma hebben trekken de luchtwegen ook wel eens samen maar omdat de structuur van de luchtwegen van gezonde mensen meer open staan dan die van astma patiënten treedt er minder benauwdheid op. Bij chronisch astma zijn de luchtwegen al gezwollen, is er meer slijmproductie en zijn de luchtwegen spontaan al een beetje samengetrokken. Een beetje extra samentrekken kan de hele luchtwegen afsluiten. Dit komt door de vormverandering van de luchtwegen. In dit onderzoek proberen wij een proefdiermodel te ontwikkelen die de symptomen in de mens zoveel mogelijk nabootsen. Indien er een goed proefdiermodel is dan kunnen er nieuwe medicijnen getest worden die mogelijk de symptomen verminderen.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om een proefdiermodel te optimaliseren voor chronische allergische astma. De belangrijkste metingen die in de patiënt in het ziekenhuis wordt gemeten zullen wij ook proberen te meten in het proefdiermodel om uiteindelijk nieuwe medicijnen uit te proberen. Globale aanpak vraagstelling: Net zoals bij de mens zullen de proefdieren (muizen) langere tijd aan allergenen worden blootgesteld. Er zijn hier proefdieren noodzakelijk omdat er metingen aan de proefdieren worden verricht die ook in het ziekenhuis in astma patiënten worden gemeten zoals de luchtwegfunctie en de structuurverandering van de luchtwegen.

Titel studie: Activatie van cellulaire immuunsysteem door misvouwde eiwitten
DEC nummer: 2012.II.03.042-a

Modulatie van het immuunsysteem door eiwitmisvouwing
Achtergrond: Een eiwit is te vergelijken met een parelketting, bestaande uit een lange streng aan elkaar geregen bouwstenen. Om zijn functie te vervullen moet deze ketting op een bepaalde manier gevouwen zijn. Onder bepaalde omstandigheden kan deze ketting zich echter ontvouwen, wat vervolgens tot een verkeerde vouwing kan leiden (misvouwing). Bij een aantal ziekten, waaronder Alzheimer en diabetes type II, treedt deze misvouwing op en dit leidt tot ongewenste activatie van het afweersysteem. Soms is het opwekken van een afweerrespons echter gewenst, zoals in de ontwikkeling van vaccins. Wij willen deze misvouwen eiwitten inzetten voor de ontwikkeling van nieuwe vaccins tegen infecties en kanker.
Doel/hypothese: De hypothese is dat misvouwde eiwitten efficiënt worden opgenomen door cellen van het immuunsysteem. De T cel respons gegenereerd op deze manier en kan vervolgens een effectief antitumor effect teweegbrengen.
Globale aanpak vraagstelling: Misvouwde eiwitten bleken een verhoogde afweerreactie te veroorzaken vergeleken met “normaal” gevouwen eiwitten. Dit wordt deels veroorzaakt door een verbeterde opname van de eiwitten in cellen die ze moeten bewerken. Wij willen het mechanisme hiervan ophelderen in het OVA model, waarvoor OVA TCR specifiek transgene OT-I en OT-II muizen nodig zijn. De antigeen presenterende dendritische cellen voor deze experimenten worden geïsoleerd uit beenmerg van BL6 muizen. Deze experimenten kunnen niet uitgevoerd worden zonder deze muizen. In vivo immunisaties en tumor challenge experimenten zullen worden uitgevoerd in BL6 muizen.

Titel studie: Lgr5 stem cells in the kidney
DEC nummer: 2012.II.03.043

Karakterisering van de lgr-5 positieve stamcel in de nier
Achtergrond: Stamcellen vormen een interessant therapeutisch aangrijpingspunt om nierherstel te bevorderende na schade. Karakterisering van nier stamcellen en het ophelderen van de regulerende mechanismen vormt een belangrijke stap in de ontwikkeling van stamcel gemedieerde therapieën om nierschade te genezen. Wij hebben recent laten zien dat het eiwit lgr-5 stamcellen identificeert in diverse organen waaronder de nier. Met behulp van een speciale genetische techniek hebben wij laten zien dat tijdens de embryonale nierontwikkeling een klein aantal cellen dat het eiwit lgr-5 tot expressie brengt, uiteindelijk een groot deel van de nier vormt. De mechanismen betrokken bij de vorming, deling en specialisatie van deze stamcellen zijn nog niet bekend. Karakterisering van nier stamcellen en het ophelderen van de regulerende mechanismen vormt een belangrijke stap in de ontwikkeling van stamcel gemedieerde therapieën om nierschade te genezen.
Doel/hypothese: Hypothese: Lgr-5 positieve cellen zijn de voorlopercellen van een bepaald deel of bepaalde delen van de nier. Doel: Evaluatie van de genexpressie van Lgr-5 positieve nier cellen om:
(1) Inzicht te krijgen in welke factoren bij de ontwikkeling van deze stamcellen betrokken zijn en (2) deze stamcellen te kunnen plaatsen in de reeks van ongespecialiseerde stamcel tot gespecialiseerde niercel.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek maken wij gebruik van proefdieren omdat er op dit moment geen alternatieven voor handen zijn om embryonale nier stamcellen te verkrijgen. Voor het verkrijgen van lgr-5 positieve nier stamcellen uit embryonale muizen nieren maken wij gebruik van Lgr5-EGFP-IRES-CreERT2 muizen. Door deze genetische aanpassing zijn de lgr-5 positieve cellen groen. Het nadeel van deze mutatie is dat alleen muizen waarvan de helft van het genetisch materiaal deze aanpassing bevat (heterozygoot) levensvatbaar is, als het gehele genetisch materiaal deze aanpassing bevat (homozygoot) overlijden de muizen. Daarom kan er alleen gefokt worden tussen heterozygote en wild type muizen, zodat alle nakomelingen levensvatbaar zijn en statistisch slechts de helft van de nakomelingen deze mutatie bevat. Tussen dag 11.5 en 13.5 na de bevruchting zullen de zwangere muizen opgeofferd worden en de nieren uit de embryo's worden verwijderd. Deze nieren zullen daarna gekweekt en getypeerd worden. Na de kweek zullen de niercellen los van elkaar gemaakt worden tot een oplossing van losse niercellen. Door middel van een FACS zullen de lgr5 positieve van de lgr5 negatieve cellen worden gescheiden. Het genexpressie patroon van de groene cellen zal geanalyseerd worden. Uit eerdere experimenten is gebleken dat er uit 25 embryo's (=50 embryonale nieren) voldoende mRNA komt voor een adequate gene array.

Titel studie: The role of vasopressing (=ADH) in lithium enhanced renal proliferation
DEC nummer: 2012.II.03.044

De rol van Vasopressine (=ADH) in lithium geïnduceerde nierceldeling
Achtergrond: Huidige therapieën voor nierziekten zijn beperkt tot het remmen van de schade en supportive care. Er zijn geen therapieën die nierherstel bevorderen. Nierherstel gaat uit van niercellen die de schade hebben overleefd. Deze cellen delen en vervangen de cellen die verloren zijn gegaan. Het identificeren van factoren die nierceldeling reguleren kan leiden tot therapieën die nierherstel bevorderen. Toename van nierceldeling wordt gezien bij individuen die met lithium behandeld worden. Lithium is daarom een interessant medicijn om herstel te bevorderen. Het is onduidelijk hoe lithium nierceldeling stimuleert. Identificatie van het mechanisme kan helpen medicijnen te ontwikkelen die nierceldeling bevorderen en niet de nadelen van lithium kent. Chronische lithium therapie wordt gecompliceerd door diverse bijwerkingen waaronder renale diabetes insipidus, een ziekte waarbij de nier moeite heeft water vast te houden. Als reactie maakt het lichaam de stof ADH, die de nier water laat vasthouden. Echter ADH kan ook nierceldeling stimuleren. Het is daarom

onze hypothese dat lithium nierceldeling stimuleert indirect via ADH.
Doel/hypothese: Hypothese: Lithium stimuleert nierceldeling indirect via ADH. Doel: Uitzoeken of de toename van celdeling in de nier als gevolg van lithium behandeling geremd kan worden met een remmer van het hormoon ADH.
Globale aanpak vraagstelling: Het gebruik van proefdieren is noodzakelijk omdat meerdere orgaansystemen betrokken zijn bij het effect van lithium op nierceldeling. Het directe effect van lithium op de renale diabetes insipidus gaat via de nier, de gevolgen hiervan worden gecompenseerd door het aanmaken van ADH in de hersenen, welke uiteindelijk hun effect op de nier hebben. Daarnaast komt het delingsgedrag van niercellen in celkweek niet overeen met dat in vivo. In dit onderzoek willen wij juist het delingsgedrag van cellen onderzoeken voor de ontwikkeling van therapieën, dus zijn de mechanismen betrokken in vivo cruciaal. Daarnaast heeft ons instituut uitgebreide ervaring met lithium behandeling en nier analyse in muizen. Wij zullen 4 groepen van 5 muizen maken, die gedurende 4 dagen behandeld zullen worden. Ten eerste een controle groep, die alleen met
placebo's wordt behandeld. Ten tweede zal een groep alleen met lithium worden behandeld. Een derde groep zal alleen met de ADH remmer worden behandeld. De laatste groep zal zowel de ADH remmer als lithium krijgen. Als primaire uitkomst parameter zal het effect van de behandeling op celdeling in de nier worden onderzocht d.m.v. histologie. Verder zal het volume en de samenstelling van urine productie worden gevolgd door de dieren voor en na behandeling in een metabole kooi te huisvesten.
Tenslotte zal er op 2 tijdspunten bloed worden afgenomen. Deze analyses zijn nodig om te kijken of de ADH antagonist en lithium toediening geen negatief effect hebben op de nierfunctie en
bloedsamenstelling, als gevolg van het toegenomen water verlies.

Titel studie: Vermindering van Campylobacter kolonisatie in vleeskuikens door toediening van carvacrol door het drinkwater van de vleeskuikens
DEC nummer: 2012.II.03.045

Vermindering van de Campylobacter kolonisatie in de darm van vleeskuikens door toediening van een oregano extract door het drinkwater
Achtergrond: Jaarlijks worden ca. 80.000 mensen in Nederland ziek door een voedselinfectie veroorzaakt door de Campylobacter bacterie. Kippen zijn symptoom loze dragers van deze bacterie en kruiscontaminatie via pluimveevlees in de keuken of op de barbecue kan een humane besmetting veroorzaken. Het verminderen van het aantal kippen dat Campylobacter bij zich draagt, kan de kans op infecties bij de mens verminderen. Sommige plantenextracten hebben een bacteriedodende werking en in dit project wordt nagegaan of met het toedienen van een specifiek oregano-extract aan het drinkwater van kippen een afname in het aantal Campylobacter-positieve kippen kan worden verkregen.
Doel/hypothese: Bepaalde extracten van oregano remmen de activiteit van voedselinfectie bacteriën (Campylobacter) in het lab. Deze studie gaat na of oregano extract in het drinkwater voor kippen: (1) De kans op besmetting van kippen met de Campylobacter bacterie kan verminderen en (2) het aantal Campylobacter bacteriën in de mest van de kippen kan verminderen.
Globale aanpak vraagstelling: In het laboratorium maakt een bepaald oregano-extract de Campylobacter bacterie minder infectieus. Om na te gaan of oregano-extract in de praktijk de besmetting van kippen met Campylobacter kan verminderen, wordt dit experiment uitgevoerd. In proef 1 wordt bepaald wat de maximum concentratie van dit Oregano-extract is wat kippen drinken. In proef 2 krijgt een groep kippen drinkwater zonder Oregano -extract en een groep kippen water met het oregano-extract. Beide groepen worden geïnoculeerd met Campylobacter bacteriën en er wordt gekeken of er een verschil is tussen de groepen in (1) het aantal kippen dat de bacterie oppikt en (2) het aantal Campylobacter bacteriën per gram kippenmest.

Titel studie: Effect of in vivo dendritic cell targeting on the T cell
DEC nummer: 2012.II.03.046

Bestuderen van een nieuwe therapie voor artritis dat zich specifiek richt op bepaalde cellen van het immuunsysteem
Achtergrond: Artritis is een chronische ontstekingsziekte. Bepaalde cellen van het immuunsysteem spelen een belangrijke rol bij het chronische karakter van deze ziekte. Verschillende onderzoeken hebben laten zien dat het mogelijk is sommige van deze cellen heel gericht te veranderen met behulp van antilichamen. Om een veilige therapie voor ontstekingsziekten als artritis te kunnen maken is het belangrijk het mechanisme te achterhalen.
Doel/hypothese: Met een gerichte therapie tegen bepaalde cellen van het immuunsysteem kan artritis onderdrukt worden. Het doel is om te bepalen wat deze cellen met andere cellen van het immuunsysteem doen en hoe onderdrukking van de ziekte precies werkt.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen zullen behandeld worden met een antilichaam gericht tegen bepaalde immuuncellen. Het is bekend dat deze cellen bepaalde andere cellen kunnen veranderen. We zullen kijken hoe deze laatste cellen veranderd zijn na behandeling en of deze cellen verantwoordelijk zijn voor onderdrukking van artritis.

Titel studie: The influence of AREG on regulatory T-cell in UVB light mediated suppression of contact hypersensitivity
DEC nummer: 2012.II.03.048

UV-B licht gemedieerde immuuntolerantie
Achtergrond: Het is nog steeds niet bekend hoe UV-B licht de immuunreactie in de huid kan remmen. Het is wel bekend dat cellen in de huid, de zo geheten mestcellen, een grote rol spelen bij huid ontstekingen. En men heeft gezien dat huidontstekingen gedempt kunnen worden met behulp van zogeheten regulatoire T-cellen. Daarnaast is het bekend dat UV-B licht deze regulatoire T-cellen kan activeren zodat de ontsteking verminderd wordt.
Doel/hypothese: Wij argumenteren dat mestcellen een bepaalde groeifactor, Amphiregulin (AREG), uitscheiden die regulatoire T-cellen in staat stelt om ontsteking in de huid te remmen.
Globale aanpak vraagstelling: Wij willen muizen die geen AREG hebben gebruiken om te onderzoeken of mestcellen die UV-B licht hebben gehad, AREG maken en regulatoire T-cellen aanzetten. Daarnaast willen we zien of deze regulatoire T-cellen de ontsteking in de huid verminderen.

Titel studie: Renal organoids
DEC nummer: 2012.II.03.049

Organoiden uit de nier als bron van stamcellen
Achtergrond: Acute en chronische nierschade vormen een belangrijk en toenemend probleem voor de volksgezondheid. Nierschade kan gezien worden als een disbalans tussen nierbeschadiging en nierherstel. De nier heeft een groot zelf herstellend vermogen; als echter de schade groter is dan dit herstellend vermogen, dan neemt de nierfunctie langzaam af. Tot op heden zijn therapieën tegen nierziekten gericht op het verminderen van schade; er zijn nog geen therapieën beschikbaar die het herstel bevorderen. Een interessant aangrijpingspunt voor nierherstel bevorderende therapieën zijn nierstamcellen. Tijdens de embryonale ontwikkeling wordt de nier gevormd uit twee verschillende mesodermale stamcelpopulaties, de ureteric bud (UB) stamcellen en de metanephrisch mesenchym (MM) stamcellen. De UB is een vertakkende buisvormige structuur die celdeling en specialisatie van de MM stamcellen induceert. Door wederzijdse stimulatie vormen de stamcellen uit de UB en MM de functionele eenheden van de nier, de nefronen. Na de geboorte worden er geen nieuwe nefronen meer gevormd. Als na de geboorte nefronen verloren gaan (bv. door ziekte) worden deze niet meer vervangen. Er is veel onduidelijkheid over de aanwezigheid en eigenschappen van stamcellen in de volwassen

nier. Stamcellen in de volwassen nier zouden een interessant aangrijpingspunt zijn voor therapieën om nierherstel te bevorderen, dan wel om het verlies van nefronen te voorkomen of zelfs de vorming van nieuwe nefronen te induceren in het volwassen individu. Ons instituut heeft de afgelopen jaren een techniek ontwikkeld om stamcellen van organen te isoleren en te kweken door gebruik te maken van zogenaamde organoid kweken. Veel organen waaronder de darm en de nier, zijn opgebouwd uit een grote hoeveelheid functionele eenheden, die elk alle onderdelen bevatten die noodzakelijk zijn voor normale orgaan functie. Wij hebben reeds voor enkele organen (lever, maag, darm) aangetoond dat deze functionele eenheden ook hun eigen herstel en celvervanging verzorgen met behulp van stamcellen. In organoid kweken worden deze functionele eenheden in kweek gebracht, waarbij niet alleen de grootte van deze functionele eenheden toeneemt, maar ook het aantal. De toename van het aantal functionele eenheden gaat gepaard met een toename van de totale hoeveelheid stamcellen. Het voordeel van organoid kweken is het feit dat organoiden vaak niet alleen stamcellen maar ook stamcel stimulerende cellen bevatten (bv. paneth cellen in de darmcrypt), die de groei en toename van stamcellen stimuleren. Recentelijk is het gelukt om uit nierweefselfragmenten structuren te kweken die sterk doen denken aan organoiden.
Doel/hypothese: Hypotheses: (1) Organoiden kunnen worden gekweekt uit volwassen muizen nieren, (2) nier organoiden bevatten nier stamcellen, (3) nier organoiden kunnen zowel groeien als specialiseren in nierweefsel en (4) nier organoiden hebben dezelfde eigenschappen als de embryonale UB. Doel: (1) Optimaliseren van de isolatie en groei van nier organoiden uit volwassen muizen nieren. (2) Functionele, microscopische en genetische karakterisering van Nier organoiden.
Globale aanpak vraagstelling: Organoid kweken hebben hun nut bewezen voor het isoleren en kweken van stamcellen van verschillende organen, bv. de maag, lever en alvleesklier. Door het kweken van functionele eenheden, worden niet alleen de stamcellen maar ook de cellen in kweek gebracht die de stamcellen stimuleren. Het stimuleren van geïsoleerde stamcellen alleen is een complex proces, dat heel moeilijk in vitro nagebootst kan worden. In organoiden worden de groeifactoren gemaakt door steuncellen die in de normale situatie ook bij de stamcellen aanwezig zijn (bv. paneth cellen in de darm crypt). Voor het kweken van organoiden moeten echter functionele eenheden uit organen geïsoleerd worden, hetgeen alleen kan door gebruik te maken van functionele organen van proefdieren. In pilot experimenten hebben wij reeds laten zien dat wij op organoiden gelijkende structuren uit nieren van volwassen muizen kunnen kweken. Daarnaast heeft onze instelling uitgebreide ervaring met microscopische, functionele en genetische analyse van muizen niercellen. Daarom willen wij in dit experiment gebruik maken van muizen als proefdier. Voor dit onderzoek willen wij nieren gebruiken van volwassen muizen. Deze muizen worden gedood, waarna de nieren worden verwijderd. Door middel van mechanische dissectie en enzymatische digestie wordt de muizen nier opgedeeld in kleine weefsel fragmenten welke in kweek worden gebracht. Voor het eerste deel (C1) van het experiment zullen wij de isolatie en kweek condities variëren. Hierbij moet gedacht worden aan de het variëren van enzymen die gebruikt worden om de functionele eenheden te isoleren uit de nier, als wel het variëren van groeifactoren in de organoid kweek. Als uitleesparameter zullen wij zowel de grootte als het aantal organoiden gebruiken. Daarnaast zullen wij onderzoeken onder welke condities wij de organoiden het langst in kweek kunnen houden. Voor de microscopische karakterisering zullen wij de organoiden na kweek microscopische onderzoeken. Voor de genetische karakterisering zullen wij genetisch materiaal uit de organoiden isoleren en onderzoeken (qPCR en gene array). Voor functionele karakterisering van de organoiden (C2), zullen wij de organoiden in contact brengen met MM. Het is onze hypothese dat de organoiden dezelfde eigenschappen hebben als de embryonale UB, Daarom willen wij organoiden in contact brengen met embryonaal MM, om te zien of de organoiden kunnen participeren in de reciproce interactie met MM, zoals de embryonale UB dat met embryonaal MM kan doen. Om de organoiden te kunnen vervolgen in dit experiment willen wij de organoiden kweken uit nieren van muizen die in alle cellen een kleurstof (bijvoorbeeld GFP) tot expressie brengen. Deze organoiden willen we in vitro in contact brengen met MM van muizen embryos die geen kleurstof tot expressie brengen. Functioneel MM is op dit moment alleen via isolatie uit muizenembryonieren verkrijgbaar, er zijn geen goede cellijnen hiervoor beschikbaar.

Titel studie: Effects of upregulation of hypoxia inducible factors in a rat model of chronic renal failure and neurogenic hypertension
DEC nummer: 2012.II.03.050

De rol van hypoxie induceerbare factoren (HIF's) in ontstaan en progressie van chronisch nierfalen en geassocieerde hypertensie

Achtergrond: Hart- en vaatziekten (HVZ) komen frequent voor bij patiënten met een nieraandoening. Waarschijnlijk speelt overactiviteit van het autonome zenuwstelsel een belangrijke rol. Verschillende experimenten hebben aangetoond dat verhoogde autonome zenuwactiviteit ontstaat doordat er in beschadigde nieren gebieden van zuurstoftekort bestaan. De bloeddruk verlagende medicijnen ACE remmers en angiotensine II blockers remmen deze verhoogde zenuwactiviteit, deels door te zorgen voor een betere zuurstofvoorziening in de aangetaste nieren. De afgelopen jaren is duidelijk geworden dat cellen een eigen aanpassingsmechanisme hebben tegen zuurstoftekort, de zgn. hypoxia inducible factors (HIF's). Proefdierstudies laten zien dat therapeutische stimulering van HIF's gunstig is bij acute nierschade. Over de rol van HIF's bij chronische nierschade is veel minder bekend. In het huidige project onderzoeken wij of stimulering van HIF's gunstige effecten heeft op progressie van chronisch nier lijden en op de bijkomende verhoogde activiteit van het autonome zenuwstelsel. Omdat de overactiviteit van het autonome zenuwstelsel waarschijnlijk gerelateerd is aan hypoxische gebieden in de nier, vermoeden wij dat opregulatie van HIF's een bloeddrukverlagend effect zal hebben waardoor HVZ worden teruggedrongen Verder is het denkbaar dat men verdere nierschade door de beschermende effecten van HIF's kan vertragen.

Doel/hypothese: De opregulatie van HIF's heeft een bloeddrukverlagend effect waardoor hart- en vaatziekten worden teruggedrongen. Hypothese: De bloeddruk verhoging ten gevolge van een nierschade (phenol injectie) is het directe gevolg van een verhoogde activiteit van het autonoom zenuwstelsel.

Globale aanpak vraagstelling: Het ontstaan van chronisch nierfalen kan niet in vitro of in computermodellen gesimuleerd worden. Ook is er geen in vitro opstelling denkbaar waarin neurogene renale hypertensie is te onderzoeken. De hypertensie ontstaat immers uit een interactie tussen de beschadigde nier en het autonome zenuwstelsel. Proefdieren, in dit geval ratten, zijn voor onze vraagstellingen derhalve onontbeerlijk. Opzet van onderzoek: Acute experimenten (terminaal) in ratten waarin we de bloeddruk en nierfunctie meten voor en na phenol injectie. Twee groepen: denervatie vs. sham-denervatie. De denervatie zal worden gedaan tijdens de operatie voor alle metingen.

Titel studie: Analyzing leukocyte composition in different cell compartments during the process of arteriogenesis
DEC nummer: 2012.II.03.051

In kaart brengen van de verschillende soorten witte bloedcellen in verschillende organen tijdens het proces van vaatgroei in de muis

Achtergrond: Aanmaak en groei van nieuwe vaten (neovascularisatie) kan in het geval van een slagaderafsluiting zorgen voor het redden van de zuurstof- en voedingsstoffentoevoer naar het achterliggende weefsel. Witte bloedcellen spelen in het weefsel en in de circulatie een cruciale rol in het proces van deze vaatgroei. Recent onderzoek heeft uitgewezen dat er tijdens het proces van vaatgroei veranderingen optreden in de tijd met betrekking tot de samenstelling van de verschillende soorten witte bloedcellen in de circulatie (bloed en beenmerg) van de muis. Tijdens het proces van vaatgroei reizen witte bloedcellen vanuit het beenmerg en bloed door het lichaam en kunnen verschillende organen ingaan, zoals in de milt, lymfknopen en lokaal in de spieren waar de vaatgroei plaatsvindt om daar bij te dragen aan de groei van nieuwe vaten. Over de samenstelling van de verschillende cellen in deze weefsels tijdens de vaatgroei is weinig tot niets bekend. Binnen deze studie willen we de samenstelling van witte bloedcellen in kaart gaan brengen in het bloed, beenmerg, milt,

lymfknopen en achterpootspieren.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het in kaart brengen van de veranderingen in celsamenstelling in bloed, beenmerg, lymfknopen, milt en achterpootspieren gedurende het proces van nieuwe vaatgroei.
Globale aanpak vraagstelling: De muizen zullen een afgebonden beenslagader krijgen in de rechterachterpoot waarna er nieuwe vaten aangemaakt worden door het gebrek aan zuurstof in het achterliggende weefsel. Voor en na operatie, op dag 1, 3 en 7 zal de bloedtoevoer naar de achterpoten gemeten worden met behulp van Laser-Doppler Imaging. Op dag 1, 3 en 7 na OK zullen ze getermineerd worden. Ook wordt er een groep getermineerd op dag 0. Na terminatie zal bloed, beenmerg, milt, lymfknopen en achterpootspieren verzameld worden. Celsamenstelling van deze organen wordt in kaart gebracht op deze verschillende tijdstippen. Helaas is er voor dit ingewikkelde proces nog geen goed laboratorium model beschikbaar wat het gebruik van proefdieren noodzakelijk maakt.

Titel studie: Vernieuwde stent coating voor de uitgroei van endotheel progenitor cellen en de remming van restenose
DEC nummer: 2012.II.03.052

Vernieuwde stent coating voor de uitgroei van endotheel progenitor cellen en de remming van vaat vernauwingen
Achtergrond: Veel patiënten krijgen na een hartinfarct een stent ingebracht om het vernauwde bloedvat open te houden. Er is daarbij een grote kans op hechting van ontstekingscellen waardoor de stent dichtgroeit en de patiënt weer klachten krijgt. Hechting van stamcellen uit het bloed die kunnen uitgroeien tot endotheelcellen, zou de hechting van de 'slechte' ontstekingscellen kunnen tegen gaan. Deze endotheel stamcellen kunnen worden weggevangen door een specifieke marker (antilichaam) om de stent te coaten. Daarnaast hebben de weggevangen cellen de juiste omgevingsfactoren nodig om goed en snel te kunnen uitgroeien tot endotheel cellen.
Doel/hypothese: Een stentcoating ontwikkelen die naast een endotheelstamcel specifiek antilichaam ook een eiwit bevat dat een enkele laag bloedplaatjes kan hechten en de deling van endotheelcellen ondersteunt waarmee de gladde spiercellen worden geremd. De bloedplaatjes zijn een bron voor groeifactoren die de uitgroei van de stamcellen kunnen bevorderen.
Globale aanpak vraagstelling: Stents worden gecoat met het endotheel stamcel-specifiek antilichaam gecombineerd met verschillende eiwitcombinaties waarvan in het lab al een positief effect van is aangetoond op de hechting van bloedplaatjes en de deling van endotheel cellen. Deze stents worden ingebracht bij konijnen en na 28 dagen verwijderd om te beoordelen welke coating de hechting en uitgroei het beste bevordert. Helaas kan dit niet zonder proefdieren gezien de geringe hoeveelheid bloed die gebruikt kan worden buiten het lichaam en het lage aantal cellen dat aanwezig is in het bloed. In proefdieren daarentegen stroomt het bloed voor een lange tijd over de stent en hebben CD34+ cellen daardoor meer kans om te hechten.

Titel studie: Healthy environment promotes renal regeneration in CKD
DEC nummer: 2012.II.03.053

Richting een klinische strategie om beenmerg afkomstige voorloper celtherapie om de progressie van chronisch nierfalen te stoppen
Achtergrond: Chronische nierinsufficiëntie (onvoldoende nierwerking) is wereldwijd een groeiend probleem. Het aantal patiënten dat niervervangende behandeling (dialyse) nodig heeft neemt toe. In Nederland is in de afgelopen 10 jaar het aantal dialyse patiënten met gemiddeld 3,5% per jaar gestegen. Daarnaast hebben patiënten met chronische nierinsufficientie een sterk verhoogd risico op hart- en vaatziekten. Het is daarom van groot belang om nieuwe methoden te ontwikkelen om

voortschrijden van nierinsufficiëntie te vertragen of voorkomen of zelfs herstel van nierfunctie te bewerkstelligen. Uit studies in dieren blijkt dat stamcel therapie bij jonge dieren beter werkt. Daarom willen we het effect van de jonge en gezonde omgeving bij chronische nierschade onderzoeken.
Doel/hypothese: Beïnvloeding van omgevingsfactoren en/of het stamcel compartiment kan de endogene regeneratieve capaciteit van de nier stimuleren.
Globale aanpak vraagstelling: Om het effect van de omgevingsfactoren en hun invloed op nier regeneratie in chronisch nierfalen te bestuderen, moet een niertransplantatie procedure in ratten gedaan worden. We gaan een zieke nier (met chronische nierschade) in een gezonde rat transplanteren om te kijken hoe de gezonde omgeving de nierregeneratie helpt. Het ontstaan van chronisch nierfalen en het effect van de gezonde omgeving hierop kan niet in vitro of in computermodellen gesimuleerd worden. Dit komt door de complexe en nog onbegrepen interactie tussen stamcellen, het lokale nierweefsel en de pathologische omstandigheden.

Titel studie: local delivery of stem cells and exosomes to improve cardiac regeneration
DEC nummer: 2012.II.03.054

Reparatie van het hart met exosomen van stamcellen
Achtergrond: Door nieuwe technieken en therapieën overleven veel mensen een hartinfarct, maar helaas heeft het hart toch schade opgelopen. Het hart moet hierdoor harder werken om toch dezelfde hoeveelheid bloed het lichaam door te pompen. Hierdoor raakt het hart uitgeput en dat leidt tot hartfalen. De schade die het hart heeft opgelopen als gevolg van het hartinfarct moet daarom worden terug gedraaid. Dit proberen onderzoekers te bewerkstelligen door middel van stamcel therapie, waarbij de stamcellen nieuw en gezond hartspierweefsel moet vormen. Uit onderzoek is gebleken dat door de transplantatie van stamcellen lichaamseigen cellen worden gestimuleerd om bloedvaatjes te vormen. Daarnaast is gebleken dat stamcellen ook allerlei groeifactoren en blaasjes (exosomen) produceren en dat stamcellen daardoor kunnen communiceren met andere cellen in het lichaam. Wij willen nu bestuderen of de exosomen van stamcellen kunnen communiceren met lichaamseigen cellen waardoor ze worden gestimuleerd om het hart te repareren.
Doel/hypothese: Wij willen bestuderen of de exosomen van stamcellen kunnen communiceren met lichaamseigen cellen waardoor ze worden gestimuleerd om het hart te repareren. We verwachten dat de exosomen van stamcellen in staat zijn lichaamseigen cellen te stimuleren zodat deze bloedvaatjes gaan vormen, zorgt voor meer nieuwe hartspier cellen waardoor het hart gerepareerd wordt. Dit zou ervoor moeten zorgen dat het hart weer beter gaat functioneren.
Globale aanpak vraagstelling: Bij een muis wordt er een hartinfarct gecreëerd waardoor de functie van het hart verminderd. Door toediening van exosomen afkomstig van stamcellen verwachten wij dat lichaamseigen cellen worden gestimuleerd het hart te repareren. Daarnaast willen we stamcel therapie verbeteren door exosomen toe te dienen in combinatie met cellen, waardoor niet alleen lichaamseigen cellen worden geactiveerd, maar ook de getransplanteerde cellen een extra boost krijgen. Het is niet mogelijk om geen gebruik te maken van proefdieren in dit onderzoek omdat we willen bestuderen hoe exosomen een rol spelen in de reparatie van het hart. Dit proces in zeer gecompliceerd doordat het afhankelijk is van vele verschillende cellen, extracellulaire matrices en paracrine factoren. Hiervoor is helaas geen alternatief aanwezig. Toch is al er al veel voorbereidend werk gedaan in kweekmodellen, zo hebben we namelijk al laten zien dat exosomen angiogenese kunnen stimuleren. Extrapolatie van deze data naar mens of dier is vrijwel onmogelijk omdat het lichaam vele malen complexer is. In vivo hebben we de pro-angiogene capaciteit (vorming van bloedvaatjes) ook laten zien middels een ander experiment, namelijk een matrigel plug experiment. Een matrigel plug assay is een vereenvoudigd experiment om naar bloedvat vorming te kijken. In het hart zijn ook nieuwe bloedvaatjes nodig, maar naast bloedvaatjes zijn er ook nieuwe hartspiercellen nodig en moet het litteken plaatsmaken voor het nieuwe en gezonde weefsel. Dit is vele malen ingewikkelder dan een matrigel plug assay. Tevens betreft het hier een schade model, het is namelijk belangrijk de rol van exosomen onder pathologische omstandigheden te bestuderen. Hiervoor zijn geen alternatieven of modellen beschikbaar.

Titel studie: Rol van adaptieve immuunsysteem in de bacterie-gastheer interactie gedurende de kolonisatie
DEC nummer: 2012.II.03.055

De rol van T cellen in de vorming van de darmflora
Achtergrond: In eerder onderzoek, gedaan met zebravissen, hebben we gezien dat tijdens de kolonisatie van de darm met bacteriën vroeg in het leven, de T cellen een grote rol spelen. T cellen zijn gespecialiseerde cellen van het afweersysteem die ons lichaam beschermen tegen ziekteverwekkers. In het voorgaande onderzoek zagen we dat deze T cellen wanneer zij bacteriën zien in de darm, de darmwandcellen een signaal geven om neutrofielen (andere cellen van het afweersysteem) aan te trekken. Neutrofielen zijn snelle 'opruimercellen' die snel bacteriën kunnen opeten en onschadelijk maken. Op deze manier zorgt onze darm ervoor dat alleen de goede bacteriën overblijven. Met dit huidige onderzoek willen we onderzoeken of dit proces ook plaatsvindt in muizen.
Doel/hypothese: Hypothesen: 1) Rag1-/- muizen hebben een andere samenstelling van de darmflora doordat zij geen T en B cellen hebben in de darm. 2) Rag1-/- muizen hebben net als Rag1-/- zebravissen minder tot geen neutrofiel rekrutering in de eerste fase van kolonisatie door bacteriën in de darm.
Globale aanpak vraagstelling: Rag1+/+ muizen (met T en B cellen), en Rag1-/- muizen (zonder T en B cellen) worden op verschillende tijdstippen na de geboorte gedood. De inhoud van de darm van deze muizen wordt dan geanalyseerd om te kijken welke bacteriën zich vestigen gedurende de eerste kolonisatie fase. Ook zien we dan of er een verschil is in samenstelling tussen muizen die wel of geen T en B cellen hebben. In het darmweefsel kunnen we allerlei stoffen meten (cytokines en chemokines) die andere cellen aantrekken. Ook hier zijn we benieuwd of muizen zonder T en B cellen andere stoffen maken dan muizen met T en B cellen. Ook bekijken we de aanwezigheid van neutrofielen en andere immuuncellen. Een deel van de darm van dezelfde muizen wordt gebruikt om darmcellen uit te kweken. Hiermee beperken we het aantal dieren dat we in dit experiment moeten gebruiken omdat we met behulp van dit systeem uit 1 darm veel meer darmen kunnen kweken. M.b.v. dit in vitro model gaan we kijken hoe verschillende bacteriën invloed hebben op de epitheelcellen van de darm van Rag1-/- en Rag1+/+ (of Rag+/-) muizen. We willen graag onderzoeken of T cellen ook een rol spelen bij de darmflora vorming in muizen. Als dit zo blijkt te zijn is er een grote kans dat dit bij mensen ook het geval is. Sommige ziekten bij mensen ontstaan juist door een microbiële disbalans (veranderde darmflora vorming) zoals chronische darmontsteking, obesitas en suikerziekte. Als nu blijkt dat T cellen een rol hierbij spelen is het misschien verstandig dat geneesmiddelen-ontwikkeling zich richt op deze T cellen als nieuwe strategie.

Titel studie: Bestaat er asymmetrische celdeling in lymfocyten en hemaetopoetische stamcellen
DEC nummer: 2012.II.03.056

Bestaat er asymmetrische celdeling in witte bloedcellen en hun voorloper cellen
Achtergrond: In het algemeen wordt aangenomen dat DNA replicatie semiconservatief (d.w.z. nieuw gemaakte DNA strands worden gelijkelijk over de dochtercellen verdeeld) plaatsvindt. Recentelijk is echter ook beschreven dat DNA segregatie in sommige celtypen asymmetrisch plaatsvindt. De aanname is dat dit de integriteit van het DNA zou verhogen wat vooral van belang is in stamcellen.
Doel/hypothese: Het doel van deze testen is het analyseren van de wijze van DNA segregatie in verschillende cel populaties (witte bloedcellen en hun voorlopers).
Globale aanpak vraagstelling: Bij deze proeven zullen cellen worden geïsoleerd uit muizen welke prenataal gelabeld zijn met zwaar water, (en waarin dus per definitie al het chromosomaal DNA gelabeld is), in vitro gelabeld worden met kleurstof waarmee het aantal delingen te volgen is. Hierna wordt in vitro deling geïnduceerd of eventueel adoptieve transfer naar acceptor muizen uitgevoerd . Na verloop van tijd (2 dagen tot 7 dagen) worden de cellen geanalyseerd (na het opofferen van de acceptor muizen). De mate van celdeling van de verschillende celpopulaties wordt bepaald m.b.v.

het kleurstofverdunningsprofiel. De mate van DNA segregatie wordt bepaald door het meten van de relatieve verrijking in het DNA. Bij semi-conservatieve celdeling verwacht je dat de verrijking tweevoudig afneemt per deling. De dierproeven zijn noodzakelijk om volledig verrijkte witte bloedcellen en voorlopers van witte bloedcellen te krijgen. Eerst zal gekeken worden of er asymmetrische celdeling in vitro plaatsvindt. Is dit niet het geval dan zal adoptieve transfer uitgevoerd worden zodat de celdeling onder normale fysiologische omstandigheden plaatsvindt.

Titel studie: ACDC 3a (vervolg) en epicardiaal
DEC nummer: 2012.II.03.057

Voorkomen van vernauwing van longvenen en behandeling na aanprikken van het hartzakje bij behandeling van hartritmestoornissen middels gelijkstroom
Achtergrond: I. Voorgaand dierexperimenteel onderzoek over het maken van streepvormige isolatielijnen middels gelijkstroom laat zien dat er geen aanwijzingen zijn voor vernauwing van de longvenen. Het aantal dierexperimenten was echter onvoldoende om statistisch zeer significante verschillen tussen behandeling met gelijkstroom en de huidige standaardmethode te kunnen laten zien. Dit ligt niet aan de uitkomsten van het eerdere onderzoek, maar aan het lage aantal uitkomsten die verzameld konden worden. II. De huidige behandelmethoden aan de buitenkant van het hart bij boezemfibrilleren hebben een succespercentage van max. 80 %, en veel patiënten hebben meerdere procedures nodig (1), er is een reële kans op complicaties (2), en de procedures duren zeer lang (3). De onderzoekers verwachten met behandeling met gelijkstroom een verbetering van alle drie genoemde aspecten.
Doel/hypothese: I. Vervolgonderzoek verrichten naar mogelijke negatieve effecten van behandeling met gelijkstroom in de longvenen, met name het optreden van vernauwing van de longvenen is hierbij van belang. II. Onderzoeken of behandeling met gelijkstroom middels een speciale katheter die in het hartzakje wordt gebracht veilig en effectief is. Het voordeel hiervan is dat de borstkas niet hoeft te worden geopend om de buitenkant van het hart te bereiken, dit benadert de huidige situatie bij mensen.
Globale aanpak vraagstelling: Vijf varkens worden onderzocht: bij de eerste procedure worden onder anesthesie I. via de vaten in 1 van de 2 longvenen behandeling met gelijkstroom afgegeven, in de andere longvene wordt behandeling met de standaardmethode afgegeven en II. via een prik in het hartzakje of na het maken van een klein gaatje in het hartzakje worden met een speciale katheter behandeling met gelijkstroom op de buitenkant van het hart afgegeven. Na het doden van de varkens (3 maanden na de ingreep) volgt microscopisch weefselonderzoek, andere studiemethoden zijn dus niet geschikt of mogelijk. Er wordt gekeken naar I. verschillen in longvenevernauwing tussen behandeling met gelijkstroom en de standaardmethode en II. veiligheid en effectiviteit van behandeling met gelijkstroom in het hartzakje (bij een gesloten borstkas).

Vergadering 18 april 2012

Titel studie: Biodistributie van colloidale carriers voor verbetering van therapie van tumoren
DEC nummer: 2012.II.04.058

Weefselverdeling van paclitaxel bevattende micellen in muizen na eenmalige intraveneuze toediening
Achtergrond: Vaste tumoren worden bestreden met antikankermiddelen die zware bijwerkingen in gezond weefsel veroorzaken. Door het insluiten van deze middelen in nanodeeltjes worden de toxische effecten in gezond weefsel voorkomen en wordt de tumorbestrijding verbeterd.
Doel/hypothese: Het doel is de lichaamsverdeling en uitscheidingssnelheid van het paclitaxel (antikankermiddel) met beladen bolletjes te bestuderen na eenmalige toediening in de bloedbaan.
Globale aanpak vraagstelling: Het antikankermiddel paclitaxel zal via verschillende manieren in de bolletjes worden ingesloten en via de bloedbaan worden toegediend aan muizen. Aansluitend zal de bloedspiegel en de weefselaccumulatie worden bepaald en daarop aansluitend de afgiftesnelheid van het antikankermiddel paclitaxel uit de bolletjes evenals de uitscheidingssnelheid. De weefselverdeling wordt bepaald door de toegankelijkheid en opname van een bepaald weefsel. Hierbij speelt de interactie van alle aanwezig cellen in levende organisme een belangrijke rol. Dit is niet invitro na te bootsen.

Titel studie: The role of complement activation during myocardial ischemia/ reperfusion injury - effect on cardiac function and remodeling
DEC nummer: 2012.II.04.059

De rol van de complementfactor C5a bij schade aan de hartspier die optreedt tijdens een hartinfarct
Achtergrond: Een hartinfarct wordt veroorzaakt door een verstopping in een van de kransslagaderen, waardoor een deel van het hart geen bloed meer krijgt. De beste manier om schade te beperken is het heropenen van het bloedvat, meestal middels een dotterprocedure, waardoor de bloedstroom wordt hersteld (i.e. reperfusie). Deze reperfusie veroorzaakt echter secundaire schade, ischemie/reperfusieschade genoemd. Er zijn aanwijzingen dat een ontstekingsreactie, aangewakkerd door het aangeboren afweersysteem, hieraan bijdraagt. In deze studie gaan we onderzoeken wat de bijdrage is van een onderdeel van het aangeboren afweersysteem, de complementfactor C5a.
Doel/hypothese: Meer te weten komen over de rol van het complementsysteem bij ischemie/reperfusieschade. Wij verwachten dat C5a bijdraagt aan ischemie/reperfusieschade en dat inhibitie van deze factor de schade beperkt, waardoor het hartinfarct kleiner zal zijn.
Globale aanpak vraagstelling: We zullen gebruik maken van muizen waarbij de receptoren van C5a (C5aR) genetisch zijn verwijderd. In deze muizen wordt een hartinfarct geïnduceerd. Door de biologische processen die vervolgens optreden te vergelijken met normale muizen die een hartinfarct ondergaan, kunnen we de rol van de receptor onderzoeken. Er zal worden gekeken naar verschillen in ontstekingsfactoren, ontstekingscellen, hartinfarctgrootte en hartfunctie. Helaas zijn er geen alternatieven voor het gebruik van proefdieren die onze onderzoeksvraag kunnen beantwoorden. Na een hartinfarct ontstaat een complex netwerk van reacties waarbij onder andere ontstekingscellen betrokken zijn. De enige manier om de samenhang van verschillende factoren te onderzoeken is het gebruik van een diermodel.

Titel studie: SPGF mediated immune escape
DEC nummer: 2012.II.04.060

Nieuw immuun escape mechanisme van vaccinia virus
Achtergrond: Virussen moeten, om een gastheer te kunnen infecteren, over tal van mechanismen beschikken waarmee ze het afweersysteem kunnen omzeilen. Het vaccinia virus heeft een bepaalde groeifactor die als "virulentie factor" bekend staat, d.w.z., er voor zorgt dat het virus in staat is om z'n gastheer binnen te dringen en daar ziekte te veroorzaken. Op welke manier deze factor precies werkt is onbekend.
Doel/hypothese: Wij hebben aanwijzingen dat deze groeifactor zogenaamde regulatoire T-cellen (een groep van T cellen die het afweersysteem remmen) stimuleert en er zo voor zorgt dat het afweer systeem minder goed werkt. Daardoor voorkomt het virus dat het door zijn gastheer opgeruimd wordt.
Globale aanpak vraagstelling: Om dit nieuwe mechanisme ook echt aan te tonen, willen wij muizen met vaccinia virus infecteren en de effectiviteit van de afweerreactie tegen het virus vergelijken met die in muizen waarin het aangrijppunt voor deze "virulentie factor" op regulatoire T-cellen ontbreekt. Alle data die we buiten de muis verzameld hebben wijzen erop dat zulke muizen het virus beter kunnen verwijderen. Echter alleen een muisproef zou het bewijs kunnen leveren.

Titel studie: Platelet uptake of coagulation factor VIII, a pilot study
DEC nummer: 2012.II.04.061

Opname van stollingsfactor VIII door de bloedplaatjes
Achtergrond: Patiënten met hemofilie A missen stollingsfactor VIII in hun bloed, waardoor ze een bloedingsneiging hebben. Om herhaalde bloedingen te voorkomen, moeten patiënten zichzelf enkele keren per week via een infuus stollingsfactor VIII toedienen. Sommige patiënten lijken langer profijt te hebben van dit middel dan de duur die meetbaar is in hun bloed. Dit suggereert dat het zich ook nog ergens anders in het lichaam ophoopt. In het laboratorium hebben we al gezien dat bloedplaatjes van mensen (buiten het lichaam) hiertoe in staat zijn. We willen graag weten of ze dit in het lichaam ook kunnen en waar stollingsfactor VIII nog meer naar toe gaat in het lichaam.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie, is om te onderzoeken hoe recombinant stollingsfactor VIII zich in het lichaam verspreid na infusie.
Globale aanpak vraagstelling: Bij mensen met hemofilie kunnen we alleen in het bloed kijken naar de aanwezigheid van FVIII, maar we kunnen geen milt, lever, longen, beenmerg of gewrichten uitnemen om ophoping van stollingsfactor VIII hierin te bepalen. Hiervoor zijn proefdieren noodzakelijk. We zullen muizen met hemofilie (die hebben geen eigen stolingsfactor VIII) via de staartader stollingsfactor VIII toedienen. Na 1,5 en na 4 uur kijken we naar aanwezigheid van stollingsfactor VIII in bloedplaatjes, bloedvatwand, nieren, milt, lever, longen, maagwand, beenmerg, gewrichtsvocht en gewrichtsbekleding.

Titel studie: De regulatie van prolyl endopeptidase in een acuut neutrofielen influx model in de longen van muizen
DEC nummer: 2012.II.04.062

De effecten van enzym remmers op het ontstaan van luchtwegontstekingen in een muizen model
Achtergrond: Luchtwegontstekingen spelen een belangrijke rol bij langdurige ziekten in de longen zoals "Chronic obstructive pulmonary disease" (COPD). Sigarettenrook is een belangrijke oorzaak voor deze ontstekingen. Het is bekend dat hierdoor het longweefsel beschadigd raakt en dus hierdoor de ontsteking kan verergeren. Er zijn bepaalde remmers

bekend, die mogelijk deze weefselschade kunnen beperken.
Doel/hypothese: Het doel is te bestuderen of het toedienen van verschillende remmers aan de aan sigarettenrook blootgestelde muizen, de luchtwegontstekingen kunnen verminderen.
Globale aanpak vraagstelling: Balb/c muizen zullen 5 achtereen volgende dagen blootgesteld worden aan sigarettenrook. Een deel van de muizen zullen tegelijk behandeld worden met bepaalde remmers (in een hoge en lage dosering) of met dexamethasone (een corticosteroïde) en een deel van de muizen niet. Vervolgens worden de luchtwegfunctie, het aantal ontstekingscellen (zoals de neutrofiel) en andere ontstekingsmediatoren bepaald in het bloed en in de longen van de muizen. Mogelijk kan dit onderzoek leiden tot therapieën voor dodelijke ziekten zoals COPD.

Titel studie: In vivo tracking of therapeutic proteins and their aggregates after injection via different routes
DEC nummer: 2012.II.04.064

Het volgen van eiwitmedicijnen na in injectie in muizen
Achtergrond: Eiwit medicijnen beslaan ongeveer 30% van de medicijnen op de markt.
Een groot nadeel van deze medicijnen is hun immunogeniciteit; in een gedeelte van de patiënten worden antilichamen tegen het medicijn geproduceerd. Deze antilichamen kunnen het medicijn neutraliseren en dus zorgen dat de therapie niet meer werkt. Wij onderzoeken waarom die antilichamen ontstaan. Als we dat weten kunnen we betere eiwitmedicijnen ontwikkelen. Belangrijk is dat we weten wat er met de eiwitmedicijnen gebeurt nadat ze worden ingespoten; naar welke organen gaan ze, en hoe lang blijven ze daar? In dit, en het vorige, experiment willen we dit onderzoeken.
Doel/hypothese: Het volgen van normaal en geklonterd muizeneiwit (albumine) na injectie, als model voor het volgen van eiwitmedicijnen.
Globale aanpak vraagstelling: Om ons experiment zo veel mogelijk op de situatie in mensen ta laten lijken, gebruiken we een eiwit dat niet lichaamsvreemd is voor muizen: muizen albumine (patiënten worden behandeld met een mensen eiwit). Albumine met en zonder klontjes wordt via verschillende routes geïnjecteerd in muizen (dosis 50 ug). Dat zijn, in de buikholte, in de vene, onder de huid of in de spier. Omdat albumine wordt gelinkt aan een fluorescent label, kunnen we nagaan waar in de muis het zich bevind. Na injectie worden de muizen enkele malen gedurende 5 dagen verdoofd en in een apparaat geplaatst om de plek van fluorescentie in het lichaam te meten.

Titel studie: Trainings DEC; Testen van biocompatibiliteit van verschillende soorten materialen (Dyneema Purity® , ePTFE, DACRON) in de bloedbaan en subcutaan bij ratten
DEC nummer: 2012.II.04.065

Dyneema Purity®: een nieuw materiaal om kunststof vaatprothese en hartkleppen te ontwikkelen
Achtergrond: Bij noodzaak tot hartklepvervanging door verschillende redenen zijn er op dit moment twee verschillende prothesen beschikbaar, namelijk de mechanische (metalen) en de biologische hartklep. Beide kleppen zorgen voor stolling van het bloed. Hierdoor bestaat de absolute noodzaak tot antistolling. Tevens heeft een biologische klep het nadeel dat deze een beperkte levensduur heeft van 7 tot 10 jaar waarna er een re-operatie geïndiceerd is. Dit maakt de biologische hartklep ongeschikt voor implantatie voor lange tijd. De mechanische hartklep gaat weliswaar levenslang mee, maar heeft als bijkomende nadeel de noodzaak tot gebruik van sterke antistollings medicatie. Deze middelen geven een verhoogde kans op (hersen-)bloedingen. Dyneema Purity® fiber (UHMWPE, Ultra High Molecular Weight Polyethylene) is een materiaal met een bijzonder eigenschap m.b.t. de sterkte. Het is ongeveer 15 keer sterker en ongeveer 7 keer flexibeler dan staal. Dat maakt dat een klep gemaakt van Dyneema Purity® fiber potentieel geschikter voor een duurzame hartklep ten opzichte van de biologische prothese. Ten tweede zal door de sterkte van de Dyneema Purity® fiber de klepbladen zo dun als een anatomisch blad gemaakt kunnen worden. Daardoor zal de opvouwbare Dyneema Purity®

fiber klep via een kleinere toegangsweg geplaatst kunnen worden. De mate van stolling van Dyneema Purity® fiber zal vergeleken worden met deze bestaande materialen (de gouden standaard).
Doel/hypothese: Het testen van de mate van aanzetting tot stolling van Dyneema Purity® fiber t.o.v. ePTFE (extended polytetrafluoroelthylen) en DACRON (polyester). Hypothese: Dyneema Purity® fiber zet de bloedstolling minder aan in de bloedbaan dan ePTFE en Dacron en vertoont vergelijkbare cel aangroei met genoemde materialen in de chronische circulatie van de rat.
Globale aanpak vraagstelling: We zullen voor dit experiment ratten opereren. De te testen materialen in vorm van een hechtdraad zal in de buikaorta ingehecht worden en op twee verschillende tijdspunten (na 3 uur en na 5 weken) worden uitgehaald om het te bestuderen op ontstaan van stolsel en celaangroei. Bij de chronische ratten (5 weken implantatie in de buikaorta) zal ook een aantal hechtdraden op de rug van de rat ingehecht worden, zodat bij terminatie van de rat de reactie van het lichaam op de draad te onderzocht kan worden.

Titel studie: The role of MAC-1 in T-cell suppression under homeostatic conditions
DEC nummer: 2012.II.04.066

De rol van het eiwit Mac-1 in het ziekteverloop van een griepinfectie
Achtergrond: Het eiwit Mac-1 speelt een cruciale rol in de afweer tegen het griepvirus. In eerdere experimenten is aangetoond dat muizen zonder dit eiwit ernstiger ziek worden dan normale dieren.
Een eerste experiment met milt cellen van griep geïnfecteerde muizen wijst erop dat deze rol in het voorkomen van ziekte na infectie mogelijk zou kunnen liggen in het voorkomen van groei van een bepaald type witte bloedcellen (T-cellen). Van deze T-cellen is dan weer aangetoond dat ze schadelijk zijn voor muizen na griepinfectie. Met deze resultaten in het achterhoofd willen wij uitzoeken of het eiwit daadwerkelijk nodig is voor het remmen van T-cellen en of deze remming alleen plaatsvindt in zieke muizen, of ook in gezonde. Daarnaast willen wij weten waar in het lichaam dit gebeurd. Bijvoorbeeld in de milt, het beenmerg of in de longen.
Doel/hypothese: Uitzoeken of het eiwit Mac-1 nodig is voor het remmen van T-cellen. Of deze remming alleen plaatsvindt in zieke muizen, of ook in gezonde en waar in het lichaam dit gebeurd.
Globale aanpak vraagstelling: Helaas is het niet mogelijk om onze studie in mensen of in computermodellen uit te voeren. Er zijn namelijk geen mensen zonder het eiwit Mac-1, terwijl er wel muizen zijn zonder. Daarnaast zullen wij gebruik maken van cellen uit zowel milt, bloed en beenmerg. Dit is niet haalbaar om van mensen te verkrijgen. Het gebruik van computermodellen is onmogelijk, doordat er zo weinig bekend is van het proces waar wij onderzoek naar doen dat eerst onderzoek in dieren zal moeten worden gedaan voordat het opzetten van een model mogelijk is. Het gebruik van cellijnen (cellen die “in een potje” kunnen worden gehouden) is niet mogelijk doordat er geen cellijnen zijn met volledig functionele neutrofielen (één van de cellen waar het eiwit Mac-1 op zit). Voor onze studie zullen cellen worden gebruikt van zowel normale muizen, als muizen die het eiwit Mac-1 missen. Deze dieren zullen worden verdoofd, waarna bloed, milt en beenmerg van deze dieren wordt verwijderd. Dit is fataal voor de dieren, deze zullen dus niet meer ontwaken uit hun verdoving. Uit het bloed, beenmerg en de milt worden cellen gehaald met Mac-1 (neutrofielen) en cellen die schadelijk zijn in griepinfectie (T-cellen). Deze cellen worden in verschillende verhoudingen bij elkaar gedaan en de groeisnelheid van de T-cellen wordt gemeten. Hierbij worden de cellen uit normale muizen vergeleken met muizen zonder Mac-1 en de cellen uit bloed, beenmerg en milt worden met elkaar vergeleken.

Titel studie: Role of LAIR-1 in the regulation of immune pathology in RSV infection
DEC nummer: 2012.II.04.067

De rol van LAIR-1 in de controle van immuun pathologie tijdens een RSV infectie
Achtergrond: Respiratoir syncytieel virus (RSV) infectie van de luchtwegen is de meest voorkomende oorzaak van de opname van kinderen in het ziekenhuis. Algemeen wordt aangenomen dat symptomen niet enkel veroorzaakt worden door een rechtstreeks effect van het virus op celdood, maar eveneens door een ongeremde immuun respons. Remmende receptoren kunnen de immuun respons als gevolg van een virale infectie van de luchtwegen bedwingen. Dit werd aangetoond in muizen met een deficiëntie van CD200, waaraan een bepaalde remmende receptor bindt. Deze muizen vertoonden een verhoogd ziektebeeld tijdens griepinfectie. Het is niet geweten of dit ook van toepassing is op andere remmende receptoren of virussen. LAIR-1 is een immuun remmende receptor die tot expressie komt op witte bloedcellen. LAIR-1 bindt collageen, dat overvloedig aanwezig is in de luchtwegen. Er bestaan tot nu toe geen voorgaande experimenten waarbij LAIR-1 geblokkeerd wordt in muizen. LAIR-1 polymorfismen in de mens worden geassocieerd met het risico op ernstige RSV infecties. Aangezien LAIR-1 in staat is de immuun respons te bedwingen, wensen wij na te gaan of het blokkeren van LAIR-1 de ernst van een RSV infectie zal versterken.
Doel/hypothese: Griepinfectie in muizen zonder CD200 resulteert in longontsteking en gewichtsverlies en het blokkeren van LAIR-1 in muizen tijdens een RSV infectie leidt tot een toegenomen infiltratie van witte bloedcellen in de longen.
Globale aanpak vraagstelling: Wij wensen het mechanisme achter het pathologisch beeld van muizen zonder LAIR-1 tijdens RSV infecties te bestuderen. Om dit te verwezenlijken dienen we eerst de dosis van het RSV uit te titreren. Vervolgens zullen we de muizen infecteren met RSV en het ziektebeeld in muizen zonder LAIR-1 en controle muizen opvolgen. We zullen eveneens eiwitconcentraties, differentieel celaantallen en signaleringsstoffen in het longvocht bepalen. Verder zullen we uitgaan van histopathologie van RSV geïnfecteerde longen om de rol van LAIR-1 signalering in de context van RSV infecties na te gaan. Bovendien zullen we het LAIR-1 fusie eiwit verder uit titreren en op basis van voorgaande parameters het effect van LAIR-1 blokkering op de ernst van een RSV infectie nagaan.

Titel studie: Effectiviteit nasale palivizumab in RSV preventie
DEC nummer: 2012.II.04.068

Effectiviteit van palivizumab neusspray in RSV preventie
Achtergrond: RSV bronchiolitis is de meest voorkomende oorzaak van ziekenhuisopname gedurende het eerste levensjaar. Het is een luchtweginfectie bij zuigelingen, die uitsluitend in de winter optreedt. Er is geen behandeling beschikbaar, wel krijgen jaarlijks een aantal zogeheten risicogroepen een palivizumab vaccinatie om hiermee het aantal RSV-gerelateerde ziekenhuisopnames te beperken. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat deze vaccinatie het aantal RSV-gerelateerde ziekenhuisopnames halveert.
Doel/hypothese: Dit onderzoek beoogt de effectiviteit van een nasale toedieningsvorm (neusspray) van dit vaccin te vergelijken met het huidige vaccin dat in het RSV-seizoen maandelijks via injecties aan de kinderen uit de diverse risicogroepen wordt toegediend.
Globale aanpak vraagstelling: Door het gebruik van diermodellen kunnen we het effect van een neusspray ten opzichte van de huidige gebruikte injecties vergelijken. De muizen zullen één van beide vormen van het vaccin toegediend krijgen waarna ze geïnfecteerd worden met RSV. De mate van weefselschade in de longen, het aantal virusdeeltjes in de longen en de mate van ontstekingscellen in de luchtwegen zullen worden bestudeerd.

Titel studie: Dieetinterventie in muismodel voor Eosinofiele esofitis (EoE)
DEC nummer: 2012.II.04.069

De relatie tussen eosinofiele oesofagitis en voedselallergie: mogelijkheden van nutritioneel ziektemanagement
Achtergrond: Eosinofiele oesofagitis is een allergische aandoening van de slokdarm, waarbij de patiënt last heeft van misselijkheid, maag- en buikpijn en slikstoornissen. Door verbeterde herkenning van de ziekte in de afgelopen 10 jaar is gebleken dat het een groter wordend probleem in de samenleving is. Om behandelingen voor deze aandoening te ontwikkelen, is het nodig om een diermodel te ontwikkelen voor EoE.
Doel/hypothese: Door middel van diëten wordt onderzocht of de symptomen van EoE verminderd/voorkomen kunnen worden. Dit zou daarna toegepast kunnen worden in klinische voeding.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek worden twee methoden toegepast waarbij BALB/c muizen gevoelig worden gemaakt (sensitisatie) voor een allergeen (eiwit), epicutaan (via de huid) en intraperitoneaal (buikholte). Daarnaast zal ook de cavia gebruikt worden als diermodel, deze wordt intraperioneaal gevoelig gemaakt. De inzet van proefdieren is noodzakelijk, omdat er biopten (stukjes weefsel) genomen moeten worden van de slokdarm. Deze biopten zijn nodig voor het begrip van de ontwikkeling van de ziekte en voor mogelijke therapeutische aangrijpingspunten. Er worden zes dieetgroepen getest. Per dieet is er een niet gesensitiseerde groep (niet gevoelig voor allergeen) en een gesensitiseerde groep.

Titel studie: Comparing the angiogenic potency of patient derived BMCs and MSCs to healthy controls
DEC nummer: 2012.II.04.070

Een vergelijking van de werkzaamheid van stamcellen van patiënten met vaatlijden en gezonde mensen
Achtergrond: Kritieke ischemie is een ziektebeeld waarbij de slagaders in de benen dermate aangedaan zijn door aderverkalking, dat er niet meer genoeg bloed doorheen stroomt om het been in leven te houden. Patiënten die deze ziekte hebben moeten vaak een amputatie van het aangedane been ondergaan. Er is nu echter een nieuwe behandeling ontwikkeld waarbij beenmerg van patiënten wordt afgenomen en in het verkalkte vat wordt gespoten alwaar stamcellen uit het beenmerg dan nieuwe vaatjes vormen die het been weer van bloed voorzien. In het UMCU loopt op momenteel een studie waar de werkzaamheid van een dergelijke therapie onderzocht wordt. Er zijn echter aanwijzingen dat de ziekteprocessen die voor de aderverkalking gezorgd hebben, ook het beenmerg van patiënten aantasten, waardoor deze therapie misschien niet bij elke patiënt zal aanslaan. In dit onderzoek willen wij kijken of we een betere therapie kunnen ontwikkelen door een type stamcel uit het beenmerg, de mesenchymale stamcel of MSC, buiten het lichaam op te kweken en dan pas te injecteren in de patiënt. Mogelijk wordt de werkzaamheid van de stamcellen van vaatpatiënten door deze kweekstap verbeterd.
Doel/hypothese: We hebben de volgende hypotheses: (1) Gekweekte MSCs doen het beter dan ongekweekte beenmergcellen van zowel vaatpatiënten als gezonde mensen. (2) Het kweken van MSC verhelpt nadelige effecten van ziekte op de werkzaamheid van beenmergcellen.
Globale aanpak vraagstelling: Cellen (beenmergcellen en MSCs) van patiënten en gezonde mensen worden in muizen geïnjecteerd. Hiervoor wordt het ziektebeeld van de patiënten nagebootst door de slagader in het been van de muizen af te sluiten. De cellen worden dan in de beenspieren (hamstrings) van de muizen geïnjecteerd. Met een laser doppler apparaat kan vervolgens gekeken worden hoe goed de bloeddoorstroming in het pootje is. Voor deze studie worden overigens speciale (naakte) muizen gebruikt, die een beperkt afweersysteem hebben, opdat zij de menselijke cellen niet afstoten.

Vergadering 16 mei 2012

Titel studie: The impact of adjuvants (cholera toxin and metal molecules) on the unwanted immune response against therapeutic interferon beta in immune tolerant mice
DEC nummer: 2012.II.05.072

In hoeverre beïnvloeden adjuvantia de afweerreactie tegen eiwitmedicijnen
Achtergrond: Eiwitmedicijnen beslaan ongeveer 30% van de medicijnen op de markt. Een groot nadeel van deze medicijnen is dat er een afweerreactie tegen gevormd kan worden. Deze reactie kan het medicijn inactief maken en zorgen voor ernstige bijwerkingen. Wij onderzoeken waarom die afweerreactie ontstaat. Een van de mogelijke redenen die vaak genoemd wordt is dat onzuiverheden in de medicijnen de afweerreactie kunnen stimuleren. Die onzuiverheden zouden als zogenoemde adjuvantia kunnen werken. Wij willen in dit experiment onderzoeken of adjuvantia inderdaad de afweerreactie tegen eiwitmedicijnen kunnen stimuleren.
Doel/hypothese: Het bestuderen of verschillende typen adjuvantia de afweerreactie tegen het eiwitmedicijn interferon beta stimuleren.
Globale aanpak vraagstelling: Wij gebruiken genetisch gemodificeerde muizen die een goed model zijn voor patiënten als het gaat om het vormen van een afweerreactie tegen het eiwitmedicijn interferon beta. Deze muizen, en controle muizen, zullen voor 3 weken met interferon beta geïnjecteerd worden (5 injecties/week). Een gedeelte van de muizen wordt ook behandeld met een adjuvant. We willen verschillende adjuvantia testen. Bloed wordt op verschillende momenten tijdens de drie weken afgenomen en getest op de afweerreactie tegen het eiwitmedicijn.

Titel studie: The influence of UVb induced regulatory T-cell and the EGF-receptor in suppression of contact hypersensitivity
DEC nummer: 2012.II.05.073

De rol van UVB geïnduceerde antigeen (een molecuul dat in staat is een reactie van het afweersysteem op te wekken) specifieke regulatoire T-cellen en het aangrijpingspunt voor het zo geheten eiwit amphiregulin op deze regulatoire T-cellen in de onderdrukking van het afweersysteem
Achtergrond: Het is nog steeds niet bekend hoe UV-B licht de immuunreactie in de huid kan remmen. Het is wel bekend dat cellen in de huid, de zo geheten mest cellen, een grote rol spelen bij huid ontstekingen. En men heeft gezien dat een ontsteking in de huid gedempt kan worden met behulp van zo geheten regulatoire T-cellen. Daarnaast is het bekend dat UVB licht deze regulatoire T-cellen kan activeren zodat de ontsteking verminderd wordt.
Doel/hypothese: Wij argumenteren dat Amphiregulin (AREG) regulatoire T-cellen activeren via het zo geheten EGFR aangrijpingspunt op deze T-cellen en de ontsteking in de huid remt.
Globale aanpak vraagstelling: Wij willen zien of UVB geïnduceerde antigeen specifieke regulatoire T-cellen geactiveerd worden door amphiregulin en de ontsteking in de huid verminderen. Door deze regulatoire T-cellen eerst te bestralen en dan terug in muizen te plaatsen weten we zeker dat de resultaten die we zien afkomstig zijn van deze regulatoire T-cellen en niet door andere cellen die ook door UVB light worden bestraald. Daarnaast zouden we ook graag willen weten of amphireguline aangrijpt op de EGF receptor op deze regulatoire T-cellen. Door UVB geïnduceerde regulatoire T-cellen zonder de EGF receptor over te zetten in wt muizen kunnen we zien of deze nog in staat zijn de immune reactie te onderdrukken.

Titel studie: Evaluation of in situ tissue engineered aortic valves in Sheep
DEC nummer: 2012.II.05.074

Evaluatie van in situ tissue engineered hartkleppen
Achtergrond: Ziekten aan de hartklep komen wereldwijd steeds meer voor. Mogelijk meer dan 850.000 patiënten hebben in 2050 klepvervanging nodig. De huidige hartklepprotheses fungeren niet optimaal. Zij kunnen trombo-embolieën veroorzaken en zij hebben mechanische defecten. Hierbij krijgen patiënten levenslang antistolling
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is het ontwikkelen van een nieuwe prothese gemaakt van lichaamseigen cellen. De prothese die wordt ontwikkeld kan functioneren als een hartklep terwijl deze prothese ook cellen aantrekt vanuit de bloedbaan. De aangetrokken cellen gaan zich delen en gaan weefsel maken. Wanneer er voldoende weefsel is gemaakt zal de prothese afbreken, waarna er alleen weefsel overblijft. Dit nieuwe weefsel is de nieuwe hartklep gemaakt uit lichaamseigen cellen, wat als groot voordeel heeft dat het geen trombo-embolieën zal veroorzaken en ook niet mechanisch defect zal gaan. De patiënten die deze klep krijgen zullen niet levenslang antistolling hoeven gebruiken.
Globale aanpak vraagstelling: Het materiaal waar de prothese die later afbreekt van gemaakt wordt is ontwikkeld door de TU/e en het UMCU. Het materiaal is veelvuldig getest in laboratoria. Uit de testen blijkt dat de materialen sterk genoeg zijn om te fungeren als hartklep, dat cellen aan deze materialen kunnen binden en dat er weefsel in het materiaal kan worden gevormd. Om de vertaling naar de patiënt te kunnen maken zijn dier onderzoeken nodig. Wij kunnen dan onderzoeken hoe veilig, duurzaam en effectief deze prothese is. Dit is een noodzakelijk stap voor klinisch gebruik. Na een pilot fase zal de klep op korte en lange termijn worden onderzocht in schapen, hierbij wordt gekeken naar weefselgroei, sterkte van de klep, functie van de klep, veiligheid, morbiditeit en mortaliteit.

Titel studie: Role of NK cells in the defence against avian influenza infection
DEC nummer: 2012.II.05.075

De rol van natuurlijke killercellen in de afweer reactie van kippen tegen een besmetting met het vogelgriepvirus
Achtergrond: De vraag die we ons stellen is of de vroege afweer (killercellen) een essentiële rol spelen in de afweerreactie tegen vogelgriep virussen. Wanneer een ziekteverwekker het lichaam binnenkomt, reageert het afweersysteem direct door killercellen te activeren die deze ziekteverwekker kunnen doden. We weten uit eerder onderzoek dat infectie met milde varianten van een H9 type vogelgriepvirus de killercellen in de long activeert. Ook weten we dat infectie met een gevaarlijk variant van een H5 type dit niet doet. We willen nu bestuderen of dit verschil in activatie van killercellen in de long bijdraagt aan het verschil in symptomen tussen milde en gevaarlijke vogelgriep varianten
Doel/hypothese: Is de activatie van killercellen in de long essentieel in de afweerreactie tegen het vogelgriepvirus?
Globale aanpak vraagstelling: Om de interactie tussen een ziekteverwekker en het dier te kunnen bestuderen zullen we niet uitkomen onder het gebruik van proefdieren. Het nabootsen van een long met bijbehorende bloed in- en uitstroom is nog niet mogelijk. Om de bijdrage van killercellen in de afweerreactie tegen het vogelgriepvirus te onderzoeken gaan we deze cellen depleteren. Vervolgens gaan we de kippen infecteren met een milde variant van het vogelgriep virus. Vervolgens halen we de verschillende organen uit het dier en op het laboratorium halen we cellen van het immuunsysteem uit de longen. Deze cellen gaan we karakteriseren, tellen en we bepalen hoeveel virus er in de verschillende organen aanwezig is. Daarnaast houden we nauwkeurig in de gaten of de kippen ziek worden. Als de kippen ziek worden van deze milde vogelgriep variant kunnen we concluderen dat killercellen in de long essentieel zijn in de afweerreactie tegen het vogelgriepvirus.

Titel studie: Food induced development of the immune system in the gut
DEC nummer: 2012.II.05.076

Kunnen we de vroege afweerreacties in de darm stimuleren door middel van voeding en leidt dit tot een betere bescherming tegen ziekteverwekkers?
Achtergrond: Het afweer systeem in de darm vormt een belangrijke bescherming tegen binnenkomende ziekteverwekkers. Een verbetering van de afweer in de darm door bv. voedingssupplementen en probiotica kan leiden tot een verhoogde bescherming tegen virussen en bacteriën. Op deze manier kunnen voedingssupplementen een alternatief vormen voor antibiotica. Het afweersysteem van neonaten verandert sterk bij de geboorte door stoffen die aanwezig zijn in bacteriën die de darm gaan vullen en stoffen uit voeding. Uit studies in zoogdieren blijkt dat met name voedingsstoffen belangrijk zijn voor de ontwikkeling van het afweer systeem. Voedingsstoffen en groeifactoren in moedermelk zetten specifiek het vroege afweersysteem (het gedeelte van het afweer systeem dat binnen enkele uren geactiveerd wordt na het binnendringen van een ziekte verwekker) aan. Ook stoffen uit planten en plantaardige producten kunnen de ontwikkeling van het vroege afweersysteem stimuleren. Op deze manier speelt voeding een belangrijke rol in de ontwikkeling van het vroege afweer systeem in pasgeborenen. In deze studie willen wij onderzoeken of ook in kippen (niet zoogdieren) het vroege afweersysteem gestimuleerd kan worden d.m.v. voeding. In de eerste plaats willen we onderzoeken hoe het vroege afweersysteem in de darm zich ontwikkelt. Vervolgens gaan we kijken of we het afweersysteem in de darm van de kip kunnen stimuleren door het gebruik
van specifieke voeding. Uiteindelijk willen we bestuderen of dit dan ook leidt tot een betere bescherming tegen ziekteverwekkers.
Doel/hypothese: De juiste voeding kan zorgen voor verbetering van het vroege afweersysteem in de darm en dit leidt tot een betere bescherming tegen ziekteverwekkers.
Globale aanpak vraagstelling: Om het effect van voedingssupplementen op de vroege afweerreactie in de darm van het dier te kunnen bestuderen zullen we niet uitkomen onder het gebruik van proefdieren. Het nabootsen van een darm met bijbehorende bloed in- en uitstroom is nog niet mogelijk. Vandaar dat we kippen een bepaald voer geven en op verschillende dagen de dieren doden. Vervolgens halen we de verschillende organen uit het dier en op het laboratorium halen we cellen van het immuunsysteem uit de darm. Deze cellen gaan we karakteriseren, tellen en we testen de activiteit van de afweercellen. Deze studie bestaat uit twee delen. In het eerste experiment willen we
onderzoeken of we de afweercellen in de darm kunnen meten. In eerdere experimenten hebben we technieken ontwikkeld om deze cellen te meten in de longen, milt en in het bloed. We hebben nog niet eerder afweercellen in de darm gemeten. Dit willen we eerst testen voor we met het echte experiment beginnen. In het tweede experiment willen we de ontwikkeling van het vroege afweersysteem in de darm van de kip bestuderen, omdat hierover nog niks bekend is. Om dit te onderzoeken willen we op meerdere tijdspunten de cellen van het vroege afweersysteem uit de darm isoleren (m.b.v. de
technieken die we in het eerste experiment hebben gevalideerd) en kijken hoeveel van deze cellen er zijn en hun activiteit bepalen.

Titel studie: Evasion Molecules in Staphylococcal Bovine Mastitis Vaccines
DEC nummer: 2012.II.05.077

Door staphylococcus aureus geproduceerde eiwitten als basis van een entstof
Achtergrond: Uierontsteking als gevolg van de bacterie Staphlococcus aureus bij melkvee is een veelvoorkomende aandoening. Deze aandoening kan bij de betreffende dieren ernstige welzijnsaantasting geven. de aangetaste dieren hebben vaak een verminderde melkproductie en zijn een gezondheidsrisico voor andere dieren in hun omgeving. De behandeling is lastig en slaagt meestal niet waardoor aangetaste koeien vaak vervroegt afgevoerd worden. Op dit moment zijn

geen goed werkzame entstoffen beschikbaar. sinds een aantal jaren is bekend dat de bacterie zijn uiterlijk kan veranderen en verschillende eiwitten produceert zodra hij de uier binnendringt en op die manier het afweersysteem weet te verwarren en te omzeilen.
Doel/hypothese: Een aantal van deze eiwitten zijn de afgelopen jaren gevonden en zijn beschikbaar voor het gebruik in een entstof. Het idee is dat het enten met deze eiwitten zorgt voor een verschuiving van de afweerreactie en er antilichamen geproduceerd worden die de eiwitten onschadelijk maken. Hierdoor zou Staphylococcus aureus de voorsprong ten opzichte van de afweer van de gastheer kunnen verliezen en zou de bacterie kunnen worden aangepakt voordat hij zich in de uier kan handhaven en infectie kan veroorzaken.
Globale aanpak vraagstelling: Natuurlijke infectie met de bacterie komt veelvuldig voor en ook zijn al enkele infectieproeven doorgevoerd op zoek naar een passende entstof. Van deze dieren zijn melk en serum monsters beschikbaar die op hun groeiremmende eigenschappen onderzocht zouden kunnen worden. Om deze monsters in een laboratorium te kunnen onderzoeken moet een laboratoriumtest ontwikkelt worden. Hiervoor is bloed en melk nodig van gezonde koeien. Als deze testen gestandaardiseerd zijn kunnen zij helpen om vast te stellen of sommige dieren na behandeling/natuurlijke infectie een beschermende afweerreactie hebben ontwikkelt en hoe deze tot stand komt. Met behulp van deze aanpak kan ook een voorselectie van veelbelovende eiwitten als entstof kandidaat uitgevoerd worden waardoor het aantal nodige dierproeven beperkt kan worden.

Titel studie: Vergelijking van nauwkeurigheid van bepaling immuunstatus bij neonatale veulens met diverse bepalingmethoden
DEC nummer: 2012.II.05.078

Vergelijking van nauwkeurigheid van bepaling immuunstatus bij neonatale veulens met diverse bepalingsmethoden
Achtergrond: Pasgeboren veulens zijn voor hun weerstand tegen infecties volledig afhankelijk van de opname van afweerstoffen via de merriemelk. Diverse oorzaken kunnen verantwoordelijk zijn voor een slechte opname van afweerstoffen welke het veulen zeer gevoelig maken voor infecties. Diverse sneltesten zijn op de markt om de immuunstatus te bepalen. Van diverse testen is de bekend dat ze een matig betrouwbare weergave geven van de werkelijke immuunstatus. Van andere testen is de betrouwbaarheid minder bekend. Het is van belang de uitkomsten van de diverse testen met elkaar te vergelijken en te correleren met de werkelijke waarde van een van de belangrijkste afweerstoffen, de IgG.
Doel/hypothese: Het doel is vast te stellen welke (snel)test het beste de werkelijke status van het afweersysteem van het veulen benadert.
Globale aanpak vraagstelling: Voor de betrouwbaarheid van het onderzoek is het belangrijk vele monsters te verzamelen van pasgeboren veulens. Om dit voor elkaar te krijgen worden niet alleen bloedmonsters getest van veulens die bij de faculteit Gezondheidszorg Paard komen, maar wordt ook contact gelegd met dierenartspraktijken en paardeneigenaren elders in het land. Van deze bloedmonsters worden zes metingen verricht. De werkelijke IgG concentratie wordt bepaald en vijf sneltesten worden op de faculteit zelf gedaan. De resultaten van deze zes metingen worden in een tabel gezet en met elkaar vergeleken. Daarnaast worden de veulens in drie groepen verdeeld. Groep 1 zijn gezonde veulens met een te verwachten hoge IgG waarde(>24 uur oud), groep 2 gezonde dieren met een te verwachten lage waarde (< 8 uur oud) groep 3 zijn zieke veulens. Aan de hand hiervan wordt er een conclusie getrokken die wat zegt over de betrouwbaarheid van deze vijf testen en of er verschil in betrouwbaarheid zit tussen gezonde en zieke veulens.

Titel studie: Complement inhibition in the classical Arthus Reaction by mLAIR-IgG and LAIR-2-IgG fusion proteins DEC nummer: 2012.II.05.079

Complement remming door LAIR- fusie eiwitten
Achtergrond: Het complement systeem is erg belangrijk in onze afweer tegen ziekteverwekkers. Echter, wanneer het complement systeem geactiveerd wordt door iets anders dan ziekteverwekkers kan het veel schade aan het lichaam toebrengen. Men heeft laten zien dat weefsel dat gestrest is geraakt door bijvoorbeeld zuurstofgebrek het complement systeem kan activeren. Dit kan voorkomen na bijvoorbeeld een hartinfarct. Ook speelt het complement systeem een belangrijke rol in de afstoting van getransplanteerde organen. Eiwitten uit het complement systeem zijn gevonden in de aderen van een groot aantal acute afstotingsreacties van nier- en harttransplantatie patiënten. Als het mogelijk zou zijn om het complement systeem te remmen, zou dit een betere uitkomst kunnen betekenen voor mensen die een hartinfarct of een orgaantransplantatie gehad hebben. In dit experiment zullen we proberen om het complement systeem te remmen met eiwitten (gemaakt van een receptor die aan collageen bindt: LAIR (fusie eiwitten)) die aangrijpen op het collageen achtige deel. In het laboratorium werken deze experimenten met menselijk en muizen serum. We zullen een complement gemedieerde ontsteking in het oor van de muizen veroorzaken, en proberen om dit te remmen door middel van het inspuiten van LAIR fusie eiwitten.
Doel/hypothese: Hypothese: LAIR fusie eiwitten kunnen complement gemedieerde ontsteking remmen.
Globale aanpak vraagstelling: Alle proeven die in het laboratorium gedaan zijn geven aan dat de LAIR eiwitten in een reageerbuisje het complement systeem kunnen remmen, maar om te bewijzen dat dit in een levend wezen ook kan, hebben we dit muizenmodel nodig. Een levend wezen is oneindig veel complexer dan een proef in een reageerbuisje wat het noodzakelijk maakt om muizen te gebruiken om deze hypothese te bewijzen. Of dit mechanisme werkelijk complement kan remmen gaan we uitzoeken in een complement afhankelijk muis ontstekingsmodel.

Titel studie: Kan het gebruik van synbiotica, acetaat of een p38 MAPK remmer voorkomen dat er ongevoeligheid optreedt voor de effecten van behandeling met glucocorticosteroiden in COPD? DEC nummer: 2012.II.05.080

Kan het gebruik van voedingsvezels en goede darmbacteriën, een product van darmbacteriën of een enzymremmer voorkomen dat er een ongevoeligheid optreedt voor de effecten van behandeling met glucocorticosteroiden in COPD?
Achtergrond: De longziekte COPD wordt gekarakteriseerd door chronische bronchitis en long emfyseem. Hierbij spelen ontstekingscellen in de longen een grote rol. Glucocorticosteroiden ((GCS) waaronder budesonide) worden tot nu toe (ondanks hun bijwerkingen op lange termijn) als behandelingstherapie toegepast in de longziekten astma en COPD vanwege hun sterke vermogen om ontstekingen te remmen. Opvallend daarbij is dat deze effecten in de ziekte astma erg groot zijn, maar in COPD treedt vaak een ongevoeligheid op voor de behandeling met glucocorticosteroiden. Wel is bekend dat enzym MAPK in staat is de werking hiervan te veranderen, waardoor juist longontstekingen ontstaan met alle gevolgen erbij. Om het ontstaan van ontstekingen in het lichaam direct te remmen, moet het immuunsysteem in een optimale toestand zijn, en hierbij speelt het darmslijmvlies een grote rol. Door middel van een goede darmflora (de bacteriën die er wonen) en vetten uit de voeding moet een goed functionerend darmslijmvlies in stand worden gehouden. Dit kan worden bewerkstelligt door gebruik van synbiotica, dat een mix is van probiotica (goede bacteriën) en prebiotica (levensmiddeleningrediënten die goede bacteriën in de darm stimuleren) of een product van darmbacteriën (acetaat). Onderzoek heeft uitgewezen dat deze stoffen een remmende invloed hebben op ontstekingen en andere voorkomende symptomen in COPD. Binnen onze afdeling is een muismodel voor COPD ontwikkeld. In dit model worden muizen gedurende 5 of 10 dagen blootgesteld aan rook waarna de verschijnselen die ook in COPD gevonden worden, zichtbaar

zijn: ontstekingen in de longen, veranderingen in de longen en gewichtsverlies. Behandeling met budesonide (GCS) gedurende 6 dagen in het 5-daags rookmodel, resulteert in een remmende werking van budesonide op ontstekingen en morfologie. Als budesonide echter gedurende 5 dagen in het 10-daags model wordt toegediend, treedt ongevoeligheid voor de werking van budesonide op en groeien de ontstekingen en verergert de morfologie. Dit laatste staat model voor de humane situatie waarin GCS ongevoeligheid optreedt in COPD patiënten.
Doel/hypothese: Doel: Onderzoeken of het gebruik van synbiotica of acetaat de ongevoeligheid voor de effecten van behandelingstherapie budesonide voorkomt, en kan deze ongevoeligheid mogelijk ook opgeheven worden door het enzym p38 MAPK uit te schakelen.
Hypothese: Op basis van eerdere onderzoeken verwachten wij dat de synbiotica alsmede acetaat remmend zullen werken op de verschijnselen van COPD (ontstekingscellen, longveranderingen en gewichtsverlies). In combinatie met de bestaande GCS therapie zal dit tot verdere verbetering leiden. Verder verwachten wij dat op basis van artikelen in de literatuur er goede remming gevonden zal worden met een p38 MAPK remmer (remt ontstekingscellen en producten van ontstekingen). We verwachten dat door de blokkade van p38 MAPK de werking van budesonide hersteld wordt.
Globale aanpak vraagstelling: Mannelijke Balb/c muizen worden gedurende 5 of 10 dagen blootgesteld aan sigarettenrook of standaard lucht. Gedurende deze dagen zullen budesonide (in de luchtwegen), acetaat (in de luchtwegen), synbiotica (via slokdarm) of een p38 MAPKremmer (in de buikholte) worden toegediend om de eventuele beschermende werking vast te kunnen stellen of om de ongevoeligheid voor de effecten van budesonide te onderzoeken. Tijdens deze periode zal het lichaamsgewicht wordt genoteerd, de feces worden geïsoleerd en de longfunctie van vrij bewegende muizen worden gemeten. Na opoffering zal bloed worden afgenomen en worden de longen gespoeld, de aantallen cellen in de longen geteld, de hoeveelheden ontstekingscellen bepaald en producten die daarbij vrijkomen worden in de longen gemeten. Verder worden alle andere relevante organen uitgenomen en bewaard voor onderzoek. Aangezien ontstekingen en de ontwikkeling van longemfyseem resultaat zijn van veel processen in het lichaam, waarbij cellen, weefsels en systemen betrokken zijn, kan de ongevoeligheid voor effecten van budesonide in COPD niet anders bestudeerd worden dan in het intacte dier.

Titel studie: Effectiviteit van Integrase remmer in FeLV geinfecteerde katten
DEC nummer: 2012.II.05.081

De mogelijkheid van een antivirale behandeling van katten met een FeLV infectie
Achtergrond: Het feline leukemievirus (FeLV) veroorzaakt bij de kat een infectie die na enkele maanden tot jaren kan leiden tot het ontstaan van bloedarmoede, tumoren en/of een ernstige verzwakking van de afweer. Dit leidt o.a. tot allerlei infecties, sterke verzwakking en uiteindelijk de dood van het dier. Ongeveer de helft van de katten die niet in staat zijn het virus te elimineren sterft binnen een jaar. Er zijn nog geen effectieve specifieke antivirale middelen voor de behandeling van FeLV geïnfecteerde katten beschikbaar. De beschikbaarheid van een effectief antiviraal middel kan de infectie voorkomen of bij reeds geïnfecteerde dieren kwaliteit van leven en de levensduur van de kat verlengen. Onderdrukking van de virusvermeerdering kan mogelijk het afweersysteem de mogelijkheid bieden het virus alsnog te elimineren.
Doel/hypothese: In het laboratorium zijn verschillende antivirale middelen getest en van enkele van deze middelen is een goede werkzaamheid vastgesteld. Deze middelen remmen de virusvermeerdering in celculturen zeer efficiënt. Voordat dit middel kan worden toegepast voor de behandeling of preventie van FeLV infecties bij katten in de praktijk dient de werkzaamheid en veiligheid in het doeldier, de kat, te worden bevestigd.
Globale aanpak vraagstelling: Om de effectiviteit in de kat aan te tonen worden katten behandeld met het antivirale middel en geïnfecteerd met FeLV. Naast de twee groepen die het antivirale middel krijgen wordt ook een groep behandeld met een placebo. Gedurende de studie wordt een aantal keren bloed afgenomen om te bepalen of en zo ja hoeveel het virus vermeerdert in de katten. De verwachting is dat de behandelde katten geen of veel minder virus aanmaken dan de

katten die alleen het placebo krijgen. Deze dierproef is noodzakelijk om te bewijzen dat het middel, waarvan de effectiviteit is aangetoond, in cellen in het laboratorium ook effectief is tegen dit virus in de kat. Deze eerste resultaten zijn van belang voor het verder ontwikkelen van het middel voor toepassing in de praktijk.

Vergadering 13 juni 2012

Titel studie: Differential effect of Amphiregulin in the suppression of colitis
DEC nummer: 2012.II.06.082

Belang van T cel interactie in het verhinderen van auto-immuun induceerde darmontsteking
Achtergrond: Wij hebben ontdekt dat de groeifactor (amphiregulin/AREG) van groot belang is voor het functioneren van een bepaald celtype, de regulatoire T-cel. Dit celtype is van groot belang om de functie van andere typen T cellen te onderdrukken die darmontsteking veroorzaken.
Doel/hypothese: Wij argumenteren dat AREG geen direct effect op de T-celtypen heeft die darmontsteking veroorzaken, maar alleen op de regulatoire T-cellen. Dus de regulatoire T-cellen beter laat functioneren.
Globale aanpak vraagstelling: Wij willen een uniek diermodel gebruiken waarin effector cellen, die darmontsteking veroorzaken, samen met regulatoire T-cellen in muizen gespoten worden. De regulatoire T-cellen kunnen de inductie van de darmontsteking voorkomen. Wij willen nu zien of deze regulatoire T-cellen dat ook nog kunnen als de effector cellen de receptor voor Amphireguline niet meer tot expressie kunnen brengen.

Titel studie: Immunomodulatie van atopische dermatitis bij de hond: Kwalitatieve vergelijking van twee isolatietechnieken van cutane T-cellen in de gezonde en atopische hondenhuid
DEC nummer: 2012.II.06.083

Immunomodulatie van atopische dermatitis bij de hond: Kwalitatieve vergelijking van twee isolatietechnieken van cutane T-cellen in de gezonde en atopische hondenhuid
Achtergrond: Atopische dermatitis (AD) is een erfelijke beïnvloede huidallergie voor voornamelijk huisstofmijten en komt zowel bij de mens als bij honden voor. De aandoening heeft ernstige consequenties voor het welzijn (als gevolg van jeuk en huidontstekingen) en komt bij 10-15% van de honden voor. Gangbare behandelingen zijn zowel voor de hond als de mens in veel gevallen levenslang en kent beperkingen en bijwerkingen. Van groot belang voor de honden met AD is dat de huidige therapeutische strategieën verbeterd gaan worden. Door een diepgaande kennis van de ontstaanswijze te verwerven, kunnen nieuwe aangrijppunten worden gekarakteriseerd. De allergie wordt manifest door een verstoring van het afweersysteem. Bepaalde groepen cellen (T-lymfocyten) oefenen hun functie niet meer optimaal uit. Het onderzoek richt zich op het herstel van dit verstoorde T-cel evenwicht.
Doel/hypothese: Het valideren van de resultaten van een eerder uitgevoerde huidkweektechniek voor T-cellen aan de hand van een directe huiddigestie methode. Eventuele invloeden van de kweek zelf worden zodoende zichtbaar en een verkeerde interpretatie hiervan kan zo voorkomen worden.
Globale aanpak vraagstelling: Van 10 gezonde honden zullen eenmalig 5 ponsbiopten van de huid met 6 mm diameter doorsnede genomen worden onder algehele narcose, waarna de huid wordt gehecht. Van 5 honden met AD zullen eenmalig op exact dezelfde wijze10 huidbiopten worden genomen. De biopten worden in het laboratorium verder enzymatisch bewerkt en de zo losgemaakte T-cellen zullen direct getypeerd kunnen worden. Het afweersysteem is een zeer gecompliceerd systeem, waarbij specifieke interacties tussen cellen onderling in een bepaald milieu gelden en wat voor elke diersoort uniek is. Het gebruik van honden om andere honden met atopische dermatitis uiteindelijk adequaat te kunnen behandelen is hierbij van essentieel belang.

Titel studie: Novel immunoglobulin light chain antagonist: assessment of efficacy
DEC nummer: 2012.II.06.084

Ontwikkeling van een nieuw geneesmiddel tegen chronisch inflammatoire ziektes
Achtergrond: In de industriële wereld is er in toenemende mate sprake van een opkomst van overgevoeligheidsreacties. Naar verwachting zullen steeds meer mensen een allergie ontwikkelen. Het ziekteproces van allergieën is grotendeels onbekend. Er is een rol voor het eiwit immuunglobuline E (IgE). Behalve IgE blijkt uit ons onderzoek dat ook vrije lichte ketens (een fragment van het eiwit immuunglobuline) in staat is een allergische reactie te veroorzaken. Dit mechanisme kan bij een breed scala aan chronische ontstekingsziekten een rol spelen. Om dit mechanisme te bestrijden is een stof ontwikkeld dat dit mechanisme op een cruciale stap blokkeert en als potentieel geneesmiddel in de behandeling van chronische ontstekingsziekten kan dienen.
Doel/hypothese: Ontwikkeling van verbeterde versies en/of toedieningsvormen van een geneesmiddel dat het effect van vrije lichte ketens (een fragment van het immuunglobuline eiwit) tegen kan gaan.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden gevoelig gemaakt voor een stof die een allergische reactie kan veroorzaken (=allergeen) door het inspuiten van fragmenten van het eiwit immuunglobuline (vrije lichte ketens) of door de huid van de muizen enkele keren bloot te stellen aan het allergeen. Vervolgens wordt na het inspuiten van het geneesmiddel gekeken of de muizen nog gevoelig zijn voor het allergeen. Door te kijken naar het verschil in gevoeligheid wordt bepaald of nieuwe (toedieningsvormen van) geneesmiddelen een verbetering zijn ten opzichte van het huidige type.

Titel studie: Role of innate lymphocyte (ILC) derived AREG in the regulation of inflammation in the lung
DEC nummer: 2012.II.06.085

Herkomst van een regulatoire T-cel activerende groeifactor
Achtergrond: Het is al langer bekend dat mensen met worminfecties minder last hebben van astma en allergieën. Hoe dit precies komt is echter onbekend. Wij hebben een groeifactor gevonden, die tijdens infecties met wormen gemaakt wordt. Deze groeifactor blijkt belangrijk te zijn voor het functioneren van een bepaald celtype, de regulatoire T cel. De rol van regulatoire T cellen is om afweerreacties af te zwakken. Het blijkt nu dat de groeifactor die we gevonden hebben de functie van regulatoire T cellen versterkt en daardoor bijdraagt aan de remming van allergische afweerreactie/astma.
Doel/hypothese: In deze proeven willen wij achterhalen door welke cellen deze factor, die allergische reacties remt, geproduceerd wordt.
Globale aanpak vraagstelling: We willen muizen met wormen infecteren, de regulatoire T cellen uit deze muizen isoleren en in muizen spuiten, waarin een allergische reactie in de longen is opgewekt. We willen dan uitlezen in welke mate de regulatoire T cellen in deze muizen ontstekingsremmend werken. In deze studies willen we “ontvangermuizen” gebruiken die gendeficiënt zijn voor de door ons gevonden groeifactor. Deze muizen worden dan, onmiddellijk voorafgaande aan de injectie van regulatoire T cellen, ingespoten met een bepaald celtype dat de door ons gevonden groeifactor maakt en waarvan heel recent is aangetoond dat ze betrokken zijn bij het initiëren van allergische reacties. We moeten bij deze proeven proefdiermodellen gebruiken omdat het afweersysteem zo complex is dat het niet kunstmatig na te bootsen is.

Titel studie: Generation of novel antibodies against immunologically important proteins
DEC nummer: 2012.II.06.086

Ontwikkelen van nieuwe antistoffen tegen moleculen die belangrijk zijn voor het immuun systeem
Achtergrond: Antistoffen zijn eiwitten gemaakt door cellen van het immuunsysteem die heel specifiek andere moleculen kunnen herkennen. Antistoffen kunnen worden nagemaakt en worden al lange tijd in laboratoria gebruikt voor diverse

onderzoeken. Met behulp van antistoffen kan de biologische functie van verschillende moleculen worden bestudeerd. Dit soort onderzoek kan leiden tot nieuwe therapeutische interventies, zoals al het geval is voor de behandeling van verschillende typen kanker, autoimmuun- en infectieziekten. Voor zowel onderzoek als therapie, is het wenselijk om over meerdere antistoffen, met verschillende eigenschappen, te beschikken tegen hetzelfde molecuul. Hierdoor kun je van verschillende opzichten een beeld van het molecuul van interesse krijgen en ook op verschillende manieren therapie richten tegen dit zelfde molecuul, wanneer deze betrokken is bij een bepaalde ziekte.
Doel/hypothese: Produceren van antistoffen tegen moleculen die belangrijk zijn in het immuun systeem.
Globale aanpak vraagstelling: Wij gaan muizen immuniseren met verschillende moleculen. De muizen zullen daarna worden gebruikt om monoklonale antistoffen te genereren. Naast de klassieke immunisatie methode, gaan wij ook een nieuwe methode gebruiken die bewezen beter resultaat geeft tegen moeilijke moleculen.

Titel studie: Productie van antilichamen specifiek voor verschillende vormen van de humane Fc alpha receptor
DEC nummer: 2012.II.06.087

Productie van antistoffen specifiek voor verschillende vormen van de humane Fc alpha receptor
Achtergrond: Antistoffen zijn eiwitten gemaakt door cellen van het immuunsysteem die heel specifiek andere moleculen kunnen herkennen. Antistoffen kunnen worden nagemaakt en worden al lange tijd in laboratoria gebruikt voor diverse onderzoeken. Met behulp van antistoffen kan de biologische functie van verschillende moleculen worden bestudeerd. Dit soort onderzoek kan leiden tot nieuwe therapeutische interventies, zoals al het geval is voor de behandeling van verschillende typen kanker, autoimmuun- en infectieziekten. Voor zowel onderzoek als therapie, is het wenselijk om over meerdere antistoffen, met verschillende eigenschappen, te beschikken tegen hetzelfde molecuul. Hierdoor kun je van verschillende opzichten een beeld van het molecuul van interesse krijgen en ook op verschillende manieren therapie richten tegen dit zelfde molecuul, wanneer deze betrokken is bij een bepaalde ziekte. Wij willen antistoffen maken tegen de humane Fc alpha receptor (FcaRI) molecuul, die verantwoordelijk is voor de binding van antistoffen van het subtype A (IgA). De interactie van Fc receptoren met antistoffen is van groot belang voor antistof immunotherapie. Recent is gebleken dat deze Fc receptoren in een actieve, goed antistof bindende vorm, en een inactieve, slecht antistof bindende vorm aanwezig kunnen zijn op cellen van het immuunsysteem. Om de werkingsmechanisme van de FcaRI molecuul beter te kunnen bestuderen, willen wij antistoffen maken die de twee vormen van deze molecuul van elkaar kunnen onderscheiden.
Doel/hypothese: Produceren van antistoffen tegen de actieve en inactieve vorm van humane Fc alpha receptor I.
Globale aanpak vraagstelling: Wij gaan muizen immuniseren met verschillende vormen van de humane Fc alpha receptor molecuul. Hierdoor zullen immuuncellen van de muizen verschillende antistoffen produceren die de humane Fc alpha receptor op een specifieke manier zullen herkennen. Wij isoleren deze immuuncellen en zullen de door hun geproduceerde antistoffen verder karakteriseren in de laboratoria.

Titel studie: Intravenous administration of human BM derived cells in CD-1 nude mice with established chronic kidney disease
DEC nummer: 2012.II.06.088

Het effect van het toedienen van menselijke beenmergcellen op chronische nierziekte bij muizen
Achtergrond: Bij chronisch nierfalen(CKD) verminderd de nierfunctie geleidelijk met als eindpunt transplantatie of dialyse. Zonder nierfunctievervanging is leven onmogelijk. Onderzoek heeft uitgewezen dat het verwijderen van 5/6 van de nieren bij muizen tot CKD in muizen kan leiden. In dit onderzoek wordt 5/6 van de nieren verwijderd om een muizenmodel van CKD te creëren waarin alle bekende CKD symptomen voorkomen. Beenmergcellen worden daarna toege-

diend om de progressie van CKD te verminderen.
Doel/hypothese: In dit experiment wordt gekeken wat het effect van het toedienen van beenmergcellen is op de nierfunctie.
Globale aanpak vraagstelling: Onvoldoende nierwerking is wereldwijd een groeiend probleem. Het aantal patiënten dat niervervangende behandeling (dialyse) nodig heeft neemt toe. In Nederland is in de afgelopen 10 jaar het aantal dialyse patiënten met gemiddeld 3,5% per jaar gestegen. Daarnaast hebben patiënten met chronische nierinsufficiëntie een sterk verhoogd risico op hart- en vaatziekten. Het is daarom van groot belang om nieuwe methoden te ontwikkelen om voortschrijden van nierinsufficiëntie te vertragen of voorkomen of zelfs herstel van nierfunctie te bewerkstelligen. Stamceltherapie lijkt hiervoor een veelbelovende optie. Uit dierstudies is gebleken dat stamcellen uit het beenmerg het herstel van verschillende vormen van acute nierinsufficiëntie kunnen bevorderen. De voorliggende studie beoogt te onderzoeken of dergelijke uit beenmerg afkomstige humane stamcellen ook in een diermodel met chronische nierinsufficiëntie de nierfunctie gunstig zou kunnen beïnvloeden. Daarnaast zullen wij onderzoeken via welke mechanismen stamcellen hun gunstige effect hebben en of er mogelijkheden zijn dit gunstige effect te vergroten. Wanneer onze dierstudies in chronische nierinsufficiëntie inderdaad een gunstig effect van stamceltherapie laten zien zullen deze bevindingen snel kunnen worden vertaald naar een klinische toepassing. Wij verwachten dat onze resultaten kunnen bijdragen tot een juist ontwerp van studies met patiënten naar de effectiviteit van stamceltherapie in patiënten met chronische nierinsufficiëntie.
In het experiment wordt chronisch nierfalen geïnduceerd met nierschade door het verwijderen van 5/6 van de nieren.

Titel studie: The in vitro modulatory effect of CpG oligodeoxynucleotides (CpG ODN) on PBMC subsets cytokine production
DEC nummer: 2012.II.06.089

Modulatie van het afweersysteem van honden met atopische dermatitis door CpG nucleotiden
Achtergrond: Atopische dermatitis (AD) is een erfelijk beïnvloedbare huidallergie voor huisstofmijten en komt zowel bij de mens als bij honden voor. De aandoening heeft ernstige consequenties voor het welzijn en komt bij 10-15% van de honden voor. Gangbare behandelingen zijn zowel voor de hond als de mens in veel gevallen levenslang en met een wisselende effectiviteit. De allergie wordt manifest door een verstoring van het afweersysteem. Bepaalde groepen cellen (T lymfocyten) oefenen hun functie niet meer optimaal uit. Het onderzoek richt zich op het herstel van dit verstoorde T cel evenwicht door gebruik te maken van stoffen die het afweersysteem kunnen moduleren (CpG oligodeoxynucleotiden).
Doel/hypothese: Onderzocht wordt hoe en in welke mate CpG oligodeoxynucleotiden kunnen bijdragen aan het beïnvloeden van het afweersysteem van honden met atopische dermatitis met als doel ziekte symptomen als jeuk en huidontstekingen te verminderen.
Globale aanpak vraagstelling: Aan de hand van in vitro experimenten (kweken van bloedcellen van gezonde en atopische honden in het laboratorium) zal onderzocht worden hoe CpG oligodeoxynucleotiden werken op het afweersysteem van de gezonde hond als uitlees parameter en met name van de hond met de spontane ziekte atopische dermatitis. Er bestaat geen goed alternatiefdier- of kunstmodel voor deze aandoening bij de hond.

Titel studie: Distinguishing between immune responses in ischemia/reperfusion injury
DEC nummer: 2012.II.06.090

De immuunreactie na het ontstaan van een hartinfarct en bij trauma
Achtergrond: Een hartinfarct ontstaat wanneer een kransslagader, die het hart van zuurstofrijk bloed voorziet, afgesloten raakt. Dit leidt in veel gevallen tot een duidelijke afname van de hartfunctie door het afsterven van functioneel weefsel. Op lange termijn kan dit zelfs lijden tot extra complicaties zoals hartfalen. De behandeling bestaat op dit moment uit het zo snel mogelijk herstellen van de doorbloeding (perfusie) van het hart om het gedeelte van de spier dat afsterft

zo klein mogelijk te houden. Juist het herstellen van de doorbloeding kan gek genoeg ook tot additionele schade leiden (reperfusieschade). Het is inmiddels bekend dat bij deze reperfusieschade het immuunsysteem een belangrijke rol speelt. Gedurende het proces van reperfusieschade stijgt het aantal ontstekingscellen in het bloed en de karakteristieken van deze cellen lijken ook anders te zijn. Van studies met patiënten is het echter ook bekend dat er tijdens het oplopen van trauma een vergelijkbare immuunreactie optreedt als bij reperfusieschade. Echter, bij het onderzoeken van reperfusieschade in varkens is er sprake van een chirurgische procedure die vergelijkbaar is met het oplopen van trauma. Hierdoor spelen er twee processen die allebei invloed op het immuunsysteem zouden kunnen hebben. Daarom is het noodzakelijk dat we weten hoe de immuunreactie precies verloopt in varkens wanneer ze worden onderworpen aan deze chirurgische procedure zonder dat er sprake is van reperfusieschade. Op deze manier kunnen we onderscheid maken tussen een immuunreactie bij chirurgie en een reactie bij reperfusieschade. Dit stelt ons uiteindelijk in staat om op een goede manier de mechanismen achter reperfusieschade te bestuderen met het uiteindelijke doel factoren te identificeren die kunnen fungeren als mogelijke aangrijpingspunten voor medicijnen om zoveel mogelijk patiënten met hartschade door een hartinfarct te kunnen behandelen.
Doel/hypothese: Het doel van dit experiment is onderscheid maken tussen de immuunreactie die wordt veroorzaakt door chirurgie aan de ene kant en de reactie die wordt veroorzaakt door reperfusieschade aan de andere kant. We verwachten dat beide onderdelen een immuunreactie teweeg brengen maar dat deze reacties in patroon zullen verschillen van elkaar (het aantal cellen, de soort cellen kunnen bijvoorbeeld anders zijn). Globale aanpak vraagstelling: Varkens zullen onder algehele verdoving worden gebracht waarna bij de ene groep zowel de borstkas als de hals zullen worden open gemaakt. Bij de andere groep zal alleen de hals worden opengemaakt waarna een hartcatheterisatie volgt. Deze procedures zijn in het verleden beiden gebruikt om toegang te krijgen tot het hart en zo een hartinfarct te creëren waardoor reperfusieschade kon worden bestudeerd. In dit geval is er dus alleen sprake van een chirurgische procedure zonder dat er daadwerkelijk een hartinfarct geïnduceerd wordt bij de varkens (de zogenaamde ''sham''-operatie). Het ongerief van deze ingreep is maar gering omdat de gehele procedure onder totale verdoving plaats zal vinden waarbij adequate pijnstilling gegeven wordt.
In beide groepen zullen we de immuunreactie bestuderen door het meten van de ontstekingscellen in het bloed tijdens deze chirurgische procedures. Hierna zullen deze uitkomsten vergeleken worden met de uitkomsten van de experimenten waarin de reperfusieschade bestudeerd is. Op deze manier kan het effect van chirurgie en reperfusieschade op het immuunsysteem bepaald worden. Aan het eind van het experiment zullen de varkens gedood worden.

Vergadering 4 juli 2012

Titel studie: Lgr5 positive cells in renal regeneration
DEC nummer: 2012.II.07.091

Lgr5 positieve stamcellen en nierherstel
Achtergrond: Stimuleren van nierherstel is een veelbelovende nieuwe therapie voor nierziekten. Stamcellen vormen een aangrijpingspunt om nierherstel te stimuleren. Hiervoor is het belangrijk stamcellen te identificeren. Wij hebben laten zien dat stamcellen voor specifieke delen van de nier te herkennen zijn aan het eiwit Lgr5. Het is op dit moment onbekend of deze lgr5 stamcellen in de volwassen nier aanwezig zijn en of deze lgr5 cellen betrokken zijn bij nierherstel.
Doel/hypothese: Doel: Wij willen de rol van lgr5 cellen onderzoeken tijdens nierherstel. Hypothese:
1- Lgr5 cellen zijn aanwezig tijdens nierherstel, 2- Lgr5 cellen dragen bij aan nierherstel.
Globale aanpak vraagstelling: Dit onderzoek zal plaatsvinden in een diermodel omdat er op dit moment geen goede cel of computer modellen zijn om nierherstel goed na te bootsen. Wij kiezen voor een muizenmodel omdat wij over muizen beschikken waarin lgr5 cellen en hun dochtercellen eenvoudig te herkennen zijn. Het gebruik van juist deze muizen is nodig om te zien welk deel van de cellen betrokken bij (natuurlijk) nierherstel afkomstig zijn van lgr5 cellen. Eerst zullen wij een reversibel schade model opzetten dat specifiek schade aanricht aan dat deel van de nier dat tijdens de embryonale ontwikkeling ontstaat uit lgr5 stamcellen. Vanuit de literatuur weten wij dat de stof Amphotericine B deze schade aan kan richten door necrose. Eerst zullen wij het effect van deze verschillende doseringen Amphotericine B onderzoeken op onze specifieke muizen op verschillende tijdstippen, om de optimale dosering Amphotericine B vast te stellen in onze muizenstam. De optimale dosering is die dosering waarbij er maximale schade optreedt gevolgd door vrijwel compleet herstel. Het exacte beloop in de tijd van de schade en het herstel in muizen is niet bekend, vandaar dat wij op verschillende tijdstoppen het effect willen evalueren. Nadat het schade model adequaat is opgezet in onze muizen, zullen we de bijdrage van lgr5 cellen aan het herstel onderzoeken. Door middel van een genetische techniek zijn lgr5 cellen en hun dochtercellen te vervolgen, en is dus de bijdrage van deze cellen aan (natuurlijk) nier herstel te onderzoeken. Wij zullen in het bovengenoemde amphotericine B schade model de bijdrage van lgr5 cellen aan het (natuurlijk) herstel van de nier onderzoeken.

Titel studie: Epicardiale lesiediepte d.m.v. hoogfrequente electroporatie
DEC nummer: 2012.II.07.092

Behandeling van hartritmestoornissen d.m.v. hoogfrequente stroompulsen
Achtergrond: De huidige operatieve methoden van behandeling van hartritmestoornissen kennen een niet-geringe kans op complicaties, terwijl de effectiviteit soms niet heel groot is. Wij hebben een techniek ontwikkeld die veiliger en effectiever is (electroporatie), hiervoor is echter altijd narcose met spierverslapping nodig. Narcose met spierverslapping heeft echter ook nadelen en leidt jaarlijks tot duizenden complicaties, en zelfs tot de dood. Wij hebben nu een verfijning van onze ontwikkelde methode bedacht die ervoor kan zorgen dat er bij de operatieve behandeling van hartritmestoornissen geen narcose met spierverslapping noodzakelijk hoeft te zijn. Deze verfijning moeten we echter nog wel op effectiviteit testen.
Doel/hypothese: Doel: 1. Het bepalen van effectiviteit van behandeling van hartspierweefsel d.m.v. hoogfrequente stroompulsen. Bestudering van relatie tussen afgegeven energie en grootte van het effectief behandelde hartspierweefsel. 2. Bepalen van mate van lichaamsbeweging tijdens behandeling van hartspierweefsel d.m.v. hoogfrequente stroompulsen m.b.v. een op het lichaam aangebrachte bewegingssensor. Hypothese: 1. Er is een duidelijke relatie tussen de hoeveel-

heid afgegeven energie en de grootte van het effectief behandelde hartspierweefsel. 2. Er is weinig/geen effect van behandeling van hartspierweefsel d.m.v. hoogfrequente stroompulsen op de kransslagvaten van het hart. 3. Er is weinig/geen beweging van de patiënt tijdens behandeling van het hartspierweefsel d.m.v. hoogfrequente stroompulsen.
Globale aanpak vraagstelling: In 10 varkens zullen we, na het filmen van de kransslagvaten, op de buitenkant van het hart behandeling met de nieuwe hoogfrequente stroompulsen uitvoeren. Dit doen we met verschillende energie instellingen. Tijdens het afgeven van de energie meten we of (en hoeveel) het varken daarbij beweegt. Na 3 weken overleving controleren we de doorgankelijkheid van de kransslagvaten van het hart opnieuw en na het doden van het varken onderzoeken we het hart op de effectiviteit van de behandeling van hartspierweefsel bij iedere energie instelling. Ook onderzoeken we de kransslagvaten microscopisch op beschadigingen. Het onderzoek dient op een levend, kloppend hart te worden uitgevoerd om het effect 3 weken later te kunnen meten. Voor dit onderzoek zijn dierproeven noodzakelijk, omdat het (1) een nooit eerder op mensen toegepaste techniek is, en (2) het hart na 3 weken overleving verwijderd dient te worden. Dit is bij mensen niet mogelijk. Met het varkenshart is reeds veel wetenschappelijke ervaring opgedaan, en is het meest geschikte model voor onze onderzoeksvraag.

Titel studie: Vergelijking van intrarenale en intraveneuze toediening van beenmerg afkomstige cellen bij chronisch nierfalen
DEC nummer: 2012.II.07.093

Vergelijking van twee methoden voor toediening van beenmerg afkomstige cellen bij chronisch nierfalen
Achtergrond: Chronische nierinsufficiëntie (onvoldoende nierwerking) is wereldwijd een groeiend probleem. Het aantal patiënten dat niervervangende behandeling (dialyse) nodig heeft neemt toe. Beenmerg therapie zou een potentiele therapie kunnen zijn. Eerder is binnen onze afdeling aangetoond dat beenmerg therapie een positief effect heeft op het functioneren van de nieren van ratten met chronische nierinsufficiëntie. Deze cellen zijn echter in de nierslagader ingespoten, het injecteren van beenmerg in een ader zou eenvoudiger en minder belastend zijn voor de dieren en de toepassing bij patiënten een stap dichterbij brengen. Het is echter niet bekend of deze methoden even effectief zijn.
Doel/hypothese: De voorliggende studie beoogt te onderzoeken of het toedienen van beenmergcellen in een ader even effectief is als toediening via de nierslagader in het verbeteren van de nierfunctie in een diermodel met chronische nierinsufficiëntie.
Globale aanpak vraagstelling: In een rattenmodel van chronisch nierfalen zal, na bevestiging van chronisch nierfalen, het effect van beenmerg toegediend via staartader of via de nierslagader getest worden, waarbij gekeken wordt naar het effect van dit beenmerg op de nierfunctie. Doordat de nier een complex orgaan is, is het niet mogelijk deze experimenten in vitro uit te voeren. Indien toediening van het beenmerg via de ader even effectief is als via de nierslagader zal dit in de toekomst minder belastend zijn voor dier en uiteindelijk de patiënt.

Titel studie: Invloed renale denervatie op vaatwand aa. renales
DEC nummer: 2012.II.07.094

Is er schade aan de vaatwand na nieuwe behandeling voor hoge bloeddruk?
Achtergrond: Eén oorzaak die een belangrijke rol lijkt te spelen bij een te hoge bloeddruk is een overactief (sympathisch) zenuwstelsel. In de wand van de slagaders die bloed naar de nieren voeren, liggen zenuwen die dit sympathische zenuwstelsel activeren. Er bestaat nu een nieuwe behandeling om deze zenuwen minder actief te maken en daardoor ook de hoge bloeddruk te kunnen behandelen. Deze nieuwe behandeling heet renale denervatie. Dit gebeurt door middel van een kathetertechniek, waarbij er energie aan de vaatwand wordt afgegeven. Uit studies van de firma zelf bleek dat er geen blijvende schade is op de vaatwand, wij willen dit echter onafhankelijk nogmaals onderzoeken.
Doel/hypothese: Wij verwachten dat er geen blijvende schade aan de vaatwand is na behandeling met renale denervatie.

Globale aanpak vraagstelling: Tien varkens zullen behandeld worden, waarbij er per varken 1 nierslagader behandeld wordt (links of rechts). De andere slagader dient als controle bloedvat, om zo per varken te kunnen bekijken wat het effect op de vaatwand is. De reden dat wij hiervoor proefdieren willen gebruiken, is omdat we deze slagader alleen kunnen bekijken als die uit het lichaam wordt gehaald, dus als de persoon/dier overleden is. Tien varkens worden onderzocht: bij de eerste procedure wordt onder anesthesie een katheter in de nierslagader gelegd. Deze zal op ca. 6 plekken energie afgeven. Na het doden van de varkens (ca. 12 weken na de behandeling) volgt microscopisch weefselonderzoek.

Titel studie: Training murine echocardiography
DEC nummer: 2012.II.07.095

Training muis echocardiografie
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Gezien de hoge incidentie van hart- en vaatziekten in de westerse wereld, vaak ten gevolge van een hartaanval, en de beperkte behandelingsmogelijkheden is het belangrijk dat onderzoek plaatsvindt naar nieuwe therapieën. De minst invasieve manier om het effect van deze therapieën op de hartfunctie te meten is met echocardiografie. Hierbij wordt een echokop op de borstkas geplaatst die met geluidsgolven de omvang en functie van het hart kan meten.
Doel is om onderzoekers op te leiden, zodat zij zelfstandig de muis echocardiografie kunnen toepassen in hun onderzoek.
Globale aanpak onderwijselement: Onder begeleiding aanleren van de echocardiografie om goede beeldvorming te maken in een levende muis. De muis zal onder verdoving worden gebracht voor en tijdens de procedure. Na de procedure kan de muis getermineerd worden of bijkomen en voor een volgende training gebruikt worden.

Titel studie: Assessment of the role of DHEA in a mouse model for IBD
DEC nummer: 2012.II.07.096

DHEA en mogelijke therapeutische werking in inflammatoire darmziekten
Achtergrond: De darmontstekingsziekten (IBD), colitis ulcerosa en de ziekte van Crohn, worden gekenmerkt door weefselschade. De interactie tussen chemokines (geproduceerd door de beschadigde darm) en chemokine receptoren (op de ontstekingscellen) zorgt voor de massale infiltratie van ontstekingscellen in de darm. Van een lichaamseigen verbinding, DHEA, is bekend dat deze de vorming van chemokines kan remmen. Een van de chemokines die sterk geremd wordt door DHEA is sterk verhoogd in darmweefsel van IBD patiënten. In deze studie willen we daarom onderzoeken of DHEA het ontstaan van darmontsteking kan remmen.
Doel/hypothese: De toediening van DHEA zorgt voor een remming van de infiltratie van ontstekingscellen in de muizen darm.
Globale aanpak vraagstelling: Een immunologische respons is een dynamische en complexe interactie van verschillende processen. De parameters die in deze experimenten gemeten worden zijn gebaseerd op deze serie van complexe interacties. Het is onmogelijk om met een celkweek dit na te bootsen. Door DSS in drinkwater op te lossen kunnen we een controleerbare acute en chronische darmontsteking in muizen induceren. Er worden verschillende doseringen DHEA gegeven, waarna de mate van ontsteking vergeleken kan worden met een groep die alleen DSS heeft gekregen (=controle groep).

Titel studie: Comparision of in vivo effector functions of IgG and IgA therapeutic antibodies
DEC nummer: 2012.II.07.097

Vergelijking van IgG en IgA therapeutische antistoffen
Achtergrond: Antistoftherapie is een nieuwe behandelingsmethode voor kankerpatiënten. Het is van belang meer te weten te komen over het werkingsmechanisme van antistoffen. Antistoffen herkennen hun target met een variabel deel en zetten het immuunsysteem aan met behulp van het constante deel. Op basis van het constant deel kunnen antistoffen ingedeeld worden in verschillende isotypes zoals IgM, IgD, IgG, IgA en IgE. Deze isotypes zetten verschillende immuunfuncties aan. Bijna alle therapeutische antistoffen zijn op dit moment van het IgG isotype. Onderzoek van de laatste jaren heeft aangetoond dat IgA anti-kanker antistoffen nog beter tumorcellen kunnen doden dan IgG.
Doel/hypothese: IgG en IgA antistoffen met elkaar vergelijken in verschillende in vivo muismodellen en het verkrijgen van meer inzicht in hoe IgG en IgA zich in vivo gedragen.
Globale aanpak vraagstelling: We gaan IgA en IgG antistoffen direct met elkaar vergelijken in twee tumormodellen.

Titel studie: Immunogenicity of aggregates of mouse serum albumin - validation study
DEC nummer: 2012.II.07.098

Kunnen kleine klontjes in muizenalbumine een afweerreactie veroorzaken?
Achtergrond: Eiwitmedicijnen veroorzaken in een gedeelte van de patiënten een afweerreactie waardoor het medicijn onwerkzaam wordt of andere bijwerkingen ontstaan. Wij onderzoeken waarom en hoe deze afweerreactie ontstaat. In vorige experimenten hebben we gevonden dat klontjes in de medicijnen de afweerreactie kunnen veroorzaken. In deze studie willen we bepalen of klontjes van een endogeen geproduceerd eiwit in muizen (muizenalbumine) eenzelfde soort van afweerreactie kunnen veroorzaken in muizen als die in patiënten plaatsvindt. Zo ja, dan zal in een vervolgexperiment gekeken worden naar de distributie van de klontjes in de organen van de muizen.
Doel/hypothese: Bestuderen of klontjes in muizenalbumine een afweerreactie in muizen kunnen veroorzaken.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden geïnjecteerd met muizenalbumine met of zonder klontjes voor 3 weken, 5 injecties per week. Voor behandeling en elke week tijdens behandeling wordt bloed afgenomen en getest op antistoffen tegen muizenalbumine.

Titel studie: In vivo tracking of therapeutic proteins and their aggregates after injection - biodistribution in the function of time
DEC nummer: 2012.II.07.099

Distributie van muizenalbumine klontjes na injecties in muizen
Achtergrond: Eiwitmedicijnen veroorzaken in een gedeelte van de patiënten een afweerreactie waardoor het medicijn onwerkzaam wordt of andere bijwerkingen ontstaan. Wij onderzoeken waarom en hoe deze afweerreactie ontstaat. In vorige experimenten hebben we gevonden dat klontjes in de medicijnen de afweerreactie kunnen veroorzaken. In deze studie willen we bepalen wat er met de eiwitklontjes gebeurt nadat ze worden ingespoten in muizen; naar welke organen gaan ze, en hoe lang blijven ze daar? Met een vorige pilot hebben we een methode opgezet om dit te meten.
Doel/hypothese: Het bepalen of de distributie van eiwitklontjes (muizenalbumine) anders is dan de distributie van niet geklonterd eiwit.
Globale aanpak vraagstelling: Het doel van het experiment is het bepalen waar eiwitaggregaten en eiwitmonomeer zich na injectie bevinden. Muizen albumine (modeleiwit) wordt fluorescent gelabeld en geaggregeerd. Muizen krijgen 1 injectie met gelabeld muizen albumine (geaggregeerd of niet geaggregeerd: monomeer), en fluorescentie wordt gemeten tot 24 uur na de injectie. Zo wordt bepaald hoe snel aggregaten en monomeer zich verwijderen van de injectie-locatie, naar

welke organen ze zich verplaatsten, hoe snel ze geëlimineerd worden etc. Om een betere inschatting te kunnen geven waar de aggregaten en monomeer zich bevinden zullen tevens muizen op verschillende tijdspunten opgeofferd worden en in vitro de geïsoleerde organen worden getest op muizenalbumine.

Titel studie: Analyse van de afgifte en functie van dendritische cel en T cel membraanblaasjes
DEC nummer: 2012.II.07.100

Regulatie van de afweerreactie d.m.v. membraanblaasjes afkomstig van afweercellen
Achtergrond: Voor een goed gereguleerde afweerreactie is een communicatie tussen verschillende typen afweercellen essentieel. Naast direct cel-cel contact spelen membraanblaasjes uitgescheiden door afweercellen een rol in intercellulaire communicatie.
Doel/hypothese: De studie richt zich op het ophelderen van de regulatie van afgifte van (verschillende typen) membraanblaasjes door afweercellen en de rol van deze blaasjes in de regulatie van de afweerreactie. De resultaten zullen leiden tot een beter inzicht in de communicatie tussen afweercellen en bijdragen aan de ontwikkeling van therapeutische toepassingen van deze blaasjes in immuungemedieerde- en gerelateerde ziekteprocessen.
Globale aanpak vraagstelling: Voor deze studie hebben we in vitro modelsystemen ontwikkeld. In deze modelsystemen wordt de interactie tussen verschillende afweercellen bestudeerd. De muizen die aangevraagd worden in deze studie zijn nodig als celdonor voor deze in vitro modelsystemen.

Titel studie: The role of CLEC9a in post infarction cardiac remodeling
DEC nummer: 2012.II.07.101

Rol van CLEC9a bij ontstaan van hartfalen na een hartinfarct
Achtergrond: Bij een hartinfarct sterft een deel van de hartspier af, dat vervolgens wordt vervangen door littekenweefsel. Onder invloed van factoren als mechanische stress en inflammatie (ontstekingsreactie) remodelleert het hart na een hartinfarct, waardoor het hart op den duur (weken/maanden/soms jaren) groter wordt en het infarctlitteken dunner. Hierdoor wordt de pompfunctie van het hart minder en kan hartfalen ontstaan. CLEC9a is een receptor op dendritische cellen (een type ontstekingscel), die dode cellen herkent en na activatie een inflammatoire reactie op gang brengt. Mogelijk draagt deze inflammatoire reactie bij aan het ongunstige remodelleringsproces na een hartinfarct.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om te onderzoeken of CLEC9a betrokken is bij het ontstaan van een inflammatoire reactie, die bijdraagt aan het ongunstige remodelleringsproces na een hartinfarct. Onze hypothese is dat CLEC9a knock-out muizen na een hartinfarct een verminderde inflammatoire reactie hebben, hetgeen zich zal uiten in minder remodeling en een beter behouden hartfunctie.
Globale aanpak vraagstelling: We zullen gebruik maken van muizen waarbij CLEC9a genetisch is verwijderd. In deze muizen wordt een hartinfarct geïnduceerd. Door de biologische processen die vervolgens optreden te vergelijken met normale muizen die een hartinfarct ondergaan, kunnen we de rol van de receptor onderzoeken. Er zal worden gekeken naar verschillen in ontstekingsfactoren, ontstekingscellen, hartinfarctgrootte en hartfunctie. Helaas zijn er geen alternatieven voor het gebruik van proefdieren die onze onderzoeksvraag kunnen beantwoorden. Na een hartinfarct ontstaat een complex netwerk van reacties waarbij onder andere ontstekingscellen betrokken zijn. De enige manier om de samenhang van verschillende factoren te onderzoeken is het gebruik van een diermodel.

Titel studie: The role of vasopressing (=ADH) in lithium enhanced renal tubular cell proliferation
DEC nummer: 2012.III.07.103

De rol van Vasopressine (=ADH) in lithium geïnduceerde nier celdeling

Achtergrond: Huidige therapieën voor nierziekten zijn beperkt tot het remmen van de schade en supportive care. Er zijn geen therapieën die nierherstel bevorderen. Nierherstel gaat uit van niercellen die de schade hebben overleefd. Deze cellen delen en vervangen de cellen die verloren zijn gegaan. Het identificeren van factoren die nier celdeling reguleren kan leiden tot therapieën die nierherstel bevorderen. Toename van nier celdeling wordt gezien bij individuen die met lithium behandeld worden. Lithium is daarom een interessant medicijn om herstel te bevorderen. Het is onduidelijk hoe lithium nier celdeling stimuleert. Identificatie van het mechanisme kan helpen medicijnen te ontwikkelen die nier celdeling bevorderen en niet de nadelen van lithium kent. Chronische lithium therapie wordt gecompliceerd door diverse bijwerkingen waaronder renale diabetes insipidus, een ziekte waarbij de nier moeite heeft water vast te houden. Als reactie maakt het lichaam de stof ADH, die de nier water laat vasthouden. Echter ADH kan ook nier celdeling stimuleren. Het is daarom onze hypothese dat lithium nier celdeling stimuleert indirect via ADH.

Doel/hypothese: Hypothese: Lithium stimuleert nier celdeling indirect via ADH. Doel: Uitzoeken of de toename van celdeling in de nier als gevolg van lithium behandeling geremd kan worden met een remmer van het hormoon ADH.

Globale aanpak vraagstelling: Het gebruik van proefdieren is noodzakelijk omdat meerdere orgaansystemen betrokken zijn bij het effect van lithium op nier celdeling. Het directe effect van lithium op de renale diabetes insipidus gaat via de nier, de gevolgen hiervan worden gecompenseerd door het aanmaken van ADH in de hersenen, welke uiteindelijk hun effect op de nier hebben. Daarnaast komt het delingsgedrag van niercellen in celkweek niet overeen met dat in vivo. In dit onderzoek willen wij juist het delingsgedrag van cellen onderzoeken voor de ontwikkeling van therapieën, dus zijn de mechanismen betrokken in vivo cruciaal. Daarnaast heeft ons instituut uitgebreide ervaring met lithium behandeling en nier analyse in muizen. Het experiment bestaat uit 2 delen. In het eerste deel zullen wij de dosering van twee verschillende ADH remmers optimaliseren in muizen. De optimale dosering van de ADH remmer is die waarmee er een maximale toename van urine productie is zonder dat de muizen klinisch relevante afwijkingen in de samenstelling van het bloed ontwikkelen. In het tweede deel zal van beide ADH remmers het effect op lithium geïnduceerde nier celdeling worden onderzocht. Als primaire uitkomst parameter zal het effect op celdeling in de nier worden onderzocht. Verder zal het volume en de samenstelling van urine worden vervolgd door de dieren voor en na behandeling in een metabole kooi te huisvesten. Ten slotte zal er op 2 tijdspunten bloed worden afgenomen. Deze analyses zijn nodig om te kijken of de ADH antagonist en lithium toediening geen negatief effect hebben op de bloedsamenstelling.

Vergadering 22 augustus 2012

Titel studie: De interactie tussen epitheelcellen, bacteriën en lymphocyten in de darm van zebravissen
DEC nummer: 2012.II.08.104

Welke rol spelen T cellen bij de vorming van de darmflora en ontwikkeling van het afweersysteem?
Achtergrond: De samenstelling van de darmflora heeft waarschijnlijk grote invloed op het afweersysteem van de gastheer. Dysbiose (verstoring) van de darmflora wordt nu in verband gebracht met overgewicht, diabetes en chronische darmontstekingen. Het is dus belangrijk te achterhalen welke processen een rol spelen bij het tot stand komen van deze samenstelling. Als we weten hoe de darmflora gereguleerd wordt kunnen we wellicht ook ingrijpen in dit proces ten gunste van de gastheer.
Doel/hypothese: In dit onderzoek willen we achterhalen welke rol T cellen (een bepaalde afweercel) speelt bij de vorming van de darmflora. We weten dat deze cellen in groten getale aanwezig is in de darm maar niemand weet precies wat ze daar doen. Wij denken dat ze deze T cellen een belangrijke rol spelen tijdens bacteriële kolonisatie.
Globale aanpak vraagstelling: We maken in dit onderzoek gebruik van zebravissen. Zebravissen zijn uitermate geschikt voor dit type onderzoek: (1) ze hebben een minder complexe darmflora (analyse makkelijker). (2) er bestaan vissen zonder T lymphocyten en vissen met T lymphocyten die een fluorescerend label hebben (zodat je ze kunt visualiseren). (3) dit onderzoek is niet uit te voeren in mensen aangezien je dan bij baby's darmbiopten zou moeten nemen. In dit onderzoek willen we vissen zonder T cellen vergelijken met vissen met T cellen. Hiervoor zullen we op verschillende tijdstippen vissen doden en kijken naar de darmflora en chemokine secretie. Chemokines zijn stoffen die in reactie op bacteriën of ontsteking gemaakt worden en zijn belangrijk voor het evenwicht in de darm tussen afweercellen en bacteriën. Verder willen we kijken welke cellen deze chemokines produceren en welke cellen beïnvloedt worden door deze chemokines.

Titel studie: Mapping of CD8 T cell epitopes in secreted antigens of Mycobacterium tuberculosis
DEC nummer: 2012.II.08.105

Identificatie van de onderdelen van Mycobacterium tuberculosis die het afweersysteem activeren
Achtergrond: Tegen verschillende infectieziektes zoals bv. tuberculose, veroorzaakt door het Mycobacterium tuberculosis, bestaan geen goede vaccins. De oorzaak hiervoor is dat de algemeen gebruikte vaccinatiestrategiën in geval van deze infectieziektes slecht werken, bij Mycobacterium tuberculosis met name omdat deze bacterie zich in cellen verstopt.
Er zijn dus nieuwe vaccinatiestrategiën nodig, die er m.n. afweer tegen in cellen overlevende ziekteverwekkers moeten opwekken. Dit is mogelijk door zogenaamde CD8 T cellen, een bepaald type afweercel, te activeren.
In context van het EU consortium waarin we deze studies verrichten, is besloten om vaccins, gebaseerd op 3 mycobacteriële eiwitten, te ontwikkelen.
Doel/hypothese: Het doel is om uitgaande van onze kennis, een strategie te ontwikkelen die gebruikt kan worden om goede CD8 T cel activerende vaccins te ontwikkelen. Voordat we dit kunnen doen moeten we echter eerst weten welke onderdeeltjes van de 3 mycobacteriële vaccineiwitten in staat zijn
om CD8 T cellen te activeren.
Globale aanpak vraagstelling: M.b.v. voorspellingsprogramma's hebben we bepaald welke onderdelen van de 3 mycobacteriële vaccineiwitten in een muizenmodel CD8 T cellen kunnen activeren. We willen nu testen of deze voorspellingen juist zijn, en dit is dan de basis voor verdere studies. Deze test kan alleen in muizen uitgevoerd worden.

Titel studie: Evaluation of stem cell markers Troy and Lgr6 in the developing and mature kidney
DEC nummer: 2012.II.08.106

Evaluatie van de stamcel markers Troy en Lgr6 in de ontwikkelende en volwassen nier
Achtergrond: Nierfalen vormt een belangrijk maatschappelijk probleem. Niet alleen door de grote morbiditeit en mortaliteit voor de patiënten, maar ook door de hoge kosten voor de gezondheidszorg. Nierfalen kan worden gezien als het resultaat van de balans tussen nierschade en nierherstel. De nier heeft een groot zelf herstellend vermogen. Als de schade echter te groot is, wordt de nierziekte progressief. Huidige behandelingen zijn beperkt tot het remmen van de schade. Therapeutisch stimuleren van herstel is een veelbelovende nieuwe therapeutische optie. Stamcellen vormen een interessant therapeutisch aangrijpingspunt om nierherstel te stimuleren. In recent onderzoek hebben wij laten zien dat de eiwitten Lgr6 en Troy gebruikt kunnen worden om stamcellen te identificeren in verschillende organen. Bij de ontwikkeling en het normale onderhoud van de nier zijn ook stamcelpopulaties betrokken. In de huidige studie willen wij onderzoeken of Lgr6 en Troy gebruikt kunnen worden om stamcellen in de nier te identificeren. Identificatie van stamcelpopulaties in de nier is een belangrijke stap in de ontwikkeling van therapieën om nierherstel te bevorderen.
Doel/hypothese: Hypothese: (1) Troy kan gebruikt worden om stamcellen te identificeren in de ontwikkelende embryonale, vroeg postnatale en volwassen nier. (2) Lgr6 kan gebruikt worden om stamcellen te identificeren in de ontwikkelende embryonale, vroeg postnatale en volwassen nier.
Doel: (1) Aantonen dat Troy aanwezig is in de ontwikkelende embryonale, vroeg postnatale en volwassen nier. (2) Aantonen dat Lgr6 aanwezig is in de ontwikkelende embryonale, vroeg postnatale en volwassen nier. (3) De bijdrage van cellen met Troy onderzoeken aan de vorming en het handhaven van nierweefsel in de ontwikkelende embryonale, vroeg postnatale en volwassen nier. (4) De bijdrage van cellen met Lgr6 onderzoeken aan de vorming en het handhaven van nierweefsel in de ontwikkelende embryonale, vroeg postnatale en volwassen nier.
Globale aanpak vraagstelling: Dit onderzoek zal plaatsvinden in een diermodel omdat er op dit moment geen goede cel of computer modellen zijn om het proces van nierontwikkeling en onderhoud na te bootsen. Wij kiezen voor een muizen model omdat wij over muizenstammen beschikken waarin cellen met Troy en Lgr6 eenvoudig zichtbaar te maken zijn. Tevens beschikken wij over muizenstammen waarin de dochtercellen van Troy en Lgr6 cellen eenvoudig te identificeren zijn. Deze speciale stammen kunnen gebruikt worden om de structurele bijdrage van Troy en Lgr6 cellen aan niervorming en onderhoud te onderzoeken. In het eerste deel van het experiment zullen we de aanwezigheid van Troy en Lgr6 positieve cellen onderzoeken in de zich ontwikkelende nier. Wij zullen dit in de embryonale fase onderzoeken en vroeg post nataal, omdat in de verschillende fases verschillende stamcellen aanwezig zijn. Tevens zullen wij kijken of deze cellen in de volwassen nier aanwezig zijn. Als deze cellen aanwezig zijn zullen wij onderzoeken of deze cellen bijdragen aan de vorming en het onderhoud van nierweefsel door gebruik te maken van de muizenstammen waarin de dochtercellen van de Troy en Lgr6 cellen eenvoudig te identificeren zijn. De bijdrage van deze cellen aan de ontwikkeling van de nier zal worden onderzocht in de embryonale fase en de vroeg postnatale fase. De bijdrage van deze cellen aan het onderhoud van de nier zal worden onderzocht in de volwassen nier.

Titel studie: Usability of the human insulin tolerant mouse model to screen immunogenicity of insulin drugs on the market (and in development)
DEC nummer: 2012.II.08.107

Hoe sterk is de afweerreactie tegen insuline medicijnen in een nieuw muismodel?
Achtergrond: Insuline is een veelgebruikt geneesmiddel bij diabetes. Helaas veroorzaakt insuline een afweerreactie in een deel van de patiënten die kan leiden tot bijwerkingen. Waarom insuline zo'n reactie veroorzaakt is onbekend. In een vorige studie hebben we een muismodel ontwikkeld waarmee we dit kunnen bestuderen. Met deze studie willen we bepalen of het muismodel tijdens de medicijnontwikkeling gebruikt kan worden om te bepalen in welke mate potentiele

insuline medicijnen een afweerreactie kunnen veroorzaken. Dit zou kunnen leiden tot selectie van potentiele toekomstige medicijnen met minimale een afweerreactie en dus betere behandeling voor patiënten.
Doel/hypothese: Bepalen of ons nieuwe muismodel gebruikt kan worden om de afweerreactie tegen insuline medicijnen te “voorspellen”.
Globale aanpak vraagstelling: Genetisch gemodificeerde muizen worden behandeld met een controle-oplossing, 1 van 3 insuline medicijnen die ook bij patiënten gebruikt worden, of 1 van 2 insuline oplossing met klontjes die zijn ontstaan door oxidatie van het product. De oplossingen worden 4 weken lang 3 keer per week geïnjecteerd. Bloed wordt afgenomen op verschillende tijdspunten voor, tijdens en na de injecties om te testen op de afweerreactie (antilichamen) tegen het insuline. Aan het eind van het experiment zullen ook verschillende organen geïsoleerd worden om verdere immunologische studies uit te voeren.

Titel studie: Function and mechanism of regulatory B cells
DEC nummer: 2012.II.08.108

Samenwerking van ontstekingsonderdrukkende witte bloedcellen in het lichaam van een muis
Achtergrond: Onder gezonde omstandigheden zorgt het afweersysteem ervoor dat bv. ziekteverwekkers herkend en afgevoerd worden. Het afweersysteem moet dus herkennen of iets gevaarlijk is (bv. een ziekteverwekker) of niet (een lichaamseigen stof). Tegen dit laatste moet de afweer natuurlijk niet actief zijn. Bij patiënten met een auto-immuunziekte is het afweersysteem ontregeld waardoor cellen van het immuunsysteem het eigen lichaam aanvallen. In gezonde mensen gebeurt dit niet. Verschillende witte bloedcellen spelen een belangrijke rol in het voorkomen van auto-immuunziekten. Deze bloedcellen kunnen een foutief beginnende afweerreactie tegen het eigen lichaam stoppen en op deze manier de gezonde balans weer opnieuw herstellen. In dit onderzoek bekijken we de ontstekingsonderdrukkende eigenschappen van een bepaald soort witte bloedcellen en hoe zijn hun werk precies doen.
Doel/hypothese: De afgelopen jaren hebben we onderzoek gedaan naar een nieuwe soort recentelijk ontdekte ontstekingsonderdrukkende bloedcel. We hebben in dit onderzoek ontdekt dat deze specifieke soort cel in staat is om de eigenschappen van een tweede soort witte bloedcellen als het ware aan te passen. Op deze manier kunnen de ontstekingsonderdrukkende eigenschappen tussen verschillende cel soorten worden doorgegeven. In dit onderzoek willen we onderzoeken hoe cellen precies worden aangepast en op welke manier dit precies gebeurt in het lichaam van een muis.
Globale aanpak vraagstelling: Om te onderzoeken hoe cellen elkaar kunnen beïnvloeden in het lichaam voeren we diverse onderzoeken uit. Een gedeelte van het onderzoek vindt plaats in het laboratorium waar we verschillende soorten witte bloedcellen met elkaar in contact brengen in een lab situatie. Analyse van cellen in het lab is relatief makkelijker en levert veel informatie op, maar een groot nadeel is dat het niet altijd de werkelijke situatie in het lichaam nabootst. De situatie in het lichaam is erg gecompliceerd vanwege invloeden van nog meer andere cellen. Om deze redenen voeren we ook dierproeven uit waarin we in het lichaam van de muis diverse soorten witte bloedcellen met elkaar in contact laten komen. Het effect van de samenwerking tussen deze cellen in het lichaam kunnen we op deze manier aflezen, en geeft belangrijke informatie voor de ontwikkeling van een mogelijke moderne therapie voor auto-immuunziekten in de toekomst.

Titel studie: The immune modulating effect of pre- and antibiotics during RSV infection in a C57BL/6 and BALB/c mouse model
DEC nummer: 2012.II.08.109

Immuunmodulerende effecten van pre-,en antibiotica tijdens RSV-infectie in een C57BL/6 muismodel
Achtergrond: In moedermelk zijn naast voedingsstoffen ook componenten aanwezig die de immuniteit van de zuigeling verhogen. Naast antilichamen die direct micro-organismen kunnen neutraliseren zijn er suikergroepen aanwezig die een

verhogend effect kunnen geven van de reactie van T lymfocyten (witte bloedcellen die een belangrijke rol spelen bij het onder controle brengen van virale infecties en ook een rol spelen bij het ontwikkelen van allergieën). Hoe deze suikergroepen precies werken is nog onduidelijk. In dit onderzoek willen we het werkingsmechanisme van dit soort suikers bestuderen. Dit doen we m.b.v. een viraal infectie model.
Doel/hypothese: Het uiteindelijke doel is een zuigelingenvoeding te ontwikkelen die meer lijkt op moedermelk en die helpt een goede afweer te ontwikkelen tegen virale infecties en bovendien voorkomt dat er allergieën worden ontwikkeld.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek willen we de invloed van darm microbiota op de immuniteit onderzoeken. Dit doen we in een viraal infectie model in muizen. Deze muizen worden op antibiotica in combinatie met een pre en/of probiotica dieet gezet waardoor de darm microbiota populatie sterk verandert. Daarna krijgen deze dieren een virale infectie. Na de infectie kijken we naar de ontwikkeling van de immuunreactie tegen het virus en hoe zich dit uit in functionele symptomen. Wij moeten deze experimenten in vivo uitvoeren omdat het complexe systeem van interactie van pre en probiotica met darmflora en direct of indirect op het immuunsysteem onmogelijk in vitro is na te bootsen.

Titel studie: Fate of mucosally applied particles
DEC nummer: 2012.II.08.110

Waar komt een stof terecht na verschillende manieren van toedienen aan de luchtwegen?
Achtergrond: Pluimvee is erg gevoelig voor infecties aan de luchtwegen en in de darm en deze zorgen voor grote economische verliezen in de pluimvee industrie. Voor de ontwikkeling van vaccins die geschikt zijn voor mucosale toediening (toediening via het slijmvlies) is het belangrijk om te onderzoeken waar een vaccin terecht komt na toediening via verschillende mucosale routes. Het is mogelijk om mucoadhesieve hulpstoffen toe te voegen aan een mucosaal vaccin en een dergelijke stof zou invloed kunnen hebben op waar een vaccin terecht komt na mucosale toediening.
Doel/hypothese: In dit experiment wordt onderzocht waar een stof terecht komt na verschillende mucosale toedieningsroutes (via het ooglid, via de neus en via de luchtpijp). Verder wordt onderzocht wat de invloed van een mucoadhesieve hulpstof hierop is.
Globale aanpak vraagstelling: Kippen krijgen fluorescerende bollen toegediend via het ooglid, de neus of de luchtpijp. Hierna wordt onderzocht hoeveel van deze bollen terecht zijn gekomen in de hardense klier en de CALT (lymfoide organen van het oog), de NALT (lymfoid weefsel in de neus), de luchtpijp, de longen, de luchtzakken en de slokdarm. Vervolgens wordt ook bestudeerd of het toevoegen van een mucoadhesieve hulpstof hier invloed op heeft. Om te testen waar een stof terecht komt na verschillende manieren van mucosale toediening is een dierproef nodig. In vitro kan bijvoorbeeld het effect van mucociliare klaring (de constante afvoer van slijm), slikken of niezen niet onderzocht worden.

Titel studie: Prevention of Arthritis via Follicular Helper Regulatory T cells & the targeting of peritoneal B cells by anti-DEC205 fusion proteins
DEC nummer: 2012.II.08.111

Onderzoek naar een bepaald soort regulerende witte bloedcel na behandeling van muizen met een mogelijk toekomstige moderne therapie tegen artritis
Achtergrond: Recentelijk vindt er veel onderzoek plaats naar een nieuw soort moderne therapie tegen auto-immuunziekten. Auto-immuunziekten zijn ziekten waarbij het immuunsysteem niet goed functioneert er het eigen lichaam aanvalt. Artritis is een voorbeeld van een auto-immuunziekte waarbij de gewrichten worden aangevallen. Op dit moment is er een nieuwe moderne therapie beschreven die goed lijkt te werken tegen diverse auto-immuunziekten, zo ook tegen artritis. Voordat deze therapie in de toekomst mogelijk toegepast kan gaan worden bij mensen, moeten wel eerst beter begrijpen op welke manier deze behandeling werkt.

Doel/hypothese: Eerder onderzoek door ons heeft aangetoond dat deze nieuwe therapie mede erg goed werkt omdat het de vorming van ziekteopwekkende 'antilichamen' tegenwerkt. We willen nu precies weten hoe deze remming in zijn werk gaat, en we willen een specifiek soort witte bloedcel onderzoeken die deze remming kan veroorzaken. We verwachten dat de therapie mogelijk meer van dit soort bloedcellen laat uitgroeien en deze op de goede manier activeert.
Globale aanpak vraagstelling: Om te kunnen zien op welke manier het immuunsysteem geremd wordt, is het nodig om proefdieren (muizen) te gebruiken. Het immuunsysteem bestaat uit een groot netwerk van samenwerkende cellen, en het is belangrijk om te weten hoe deze cellen reageren als een lichaam met de therapie wordt behandeld. In deze proef behandelen we een groep muizen met de nieuwe therapie en een controle groep krijgt de therapie niet. Daarna onderzoeken we de cellen van het immuunsysteem om te begrijpen op welke manier de auto-immuunziekte artritis wordt onderdrukt.

Titel studie: Mucosal residence time of NDV vaccine
DEC nummer: 2012.II.08.112

Het effect van mucoadhesieve hulpstoffen op de verblijftijd van newcastle disease virus in de luchtwegen van kippen
Achtergrond: Pluimvee is erg gevoelig voor luchtweginfecties en deze zorgen voor grote economische verliezen in de pluimvee-industrie. Desondanks is er nog erg weinig bekend over immunologische processen in de luchtwegen van de kip. Voor de ontwikkeling van nieuwe vaccins is het belangrijk om meer kennis te verkrijgen van de immunologie van de gezonde en de geïnfecteerde respiratoire tract.
Doel/hypothese: In dit experiment wordt de verblijftijd in de luchtwegen bestudeerd van het geïnactiveerd Newcastle disease virus (NDV) vaccin waaraan verschillende mucoadhesieve hulpstoffen (hulpstoffen die ervoor zorgen dat een vaccin langer in de luchtwegen aanwezig blijft) zijn toegevoegd. Door toevoegen van een mucoadhesieve hulpstof zal het vaccin langer aanwezig blijven en daardoor zal uiteindelijk de opname van het vaccin door antigen-presenterende cellen worden vergroot.
Globale aanpak vraagstelling: Om te testen hoelang een NDV vaccin in de luchtwegen aanwezig blijft, wordt geïnactiveerd NDV in combinatie met verschillende mucoadhesieve stoffen via de luchtpijp toegediend. Vervolgens wordt op verschillende tijdstippen na toediening gekeken hoeveel van het virus nog aanwezig is, en hoeveel virus is uitgescheiden. Om te onderzoeken hoelang een vaccin in de luchtwegen aanwezig blijft is een dierproef nodig. In vitro kan de invloed van mucociliaire klaring (de constante afvoer van slijm) in de luchtwegen op de verblijftijd van stoffen niet onderzocht worden.

Titel studie: Anti-arrhythmic efficacy of flecainide and dantrolene against repolarisation-dependent Torsade de Pointes arrhythmias
DEC nummer: 2012.II.08.113

Effectiviteit van flecainide en dantrolene tegen Torsade de Pointes hartritmestoornissen
Achtergrond: Hartritmestoornissen (zowel erfelijke als niet erfelijke vormen) komen vaak voor. Het implanteren van een interne cardioverter-defibrillator (ICD) is de meest gebruikte behandel methode. Implantatie van een ICD is echter zeer belastend voor de patiënt en het risico op complicaties is niet gering. Ontwikkeling van nieuwe medicamenteuze behandelingen voor hartritmestoornissen (anti-aritmica) is daarom hard nodig. Door eerst bestaande medicamenten met een potentieel interessant werkingsmechanisme, die verkrijgbaar zijn voor de behandeling van andere aandoeningen, te testen in een geschikt diermodel kan een goed beeld geschetst worden welk werkingsmechanisme en aangrijpingspunten belangrijk zijn. Aan de hand van deze informatie kunnen nieuwe specifiekere en effectievere medicamenten ontwikkeld worden. Torsade de Pointes (TdP) is een gevaarlijke hartritmestoornis die naast erfelijke oorzaken ook kan worden opgewekt door verschillende medicijnen. Daarom is het belangrijk dat nieuwe en bestaande medicijnen ook getest worden

op deze levensbedreigende bijwerking. Het cAVB hondenmodel is een goed gevalideerd en geschikt diermodel. In deze honden kan zowel de effectiviteit van nieuwe medicijnen tegen dofetilide-geïnduceerde TdP hartritmestoornissen als het eventueel opwekken van TdP getest worden.
Doel/hypothese: (1) Bepalen of flecainide effectief is tegen hartritmestoornissen in het cAV hondenmodel. (2) Bepalen of dantrolene effectief is tegen hartritmestoornissen in het cAVB hondenmodel. (3) Bepalen of het medicament Vernakalant Torsade de Pointes hartritmestoornissen kan veroorzaken.
Globale aanpak vraagstelling: Hartritmestoornissen zijn een complexe uiting van meerdere factoren op zowel cellulair niveau als op de elektrische geleiding van het gehele hart. Daarom is het belangrijk dat anti-aritmica die op verschillende niveaus ingrijpen in dit proces getest worden in een geschikt diermodel op zowel effectiviteit als ongewenste bijwerkingen zoals het opwekken van een hartritmestoornis. Het cAVB hondenmodel is een geschikt diermodel omdat het elektrische systeem van het hondenhart goed overeenkomt met dat van een mens. Verder is dit diermodel goed gekarakteriseerd en heeft onze afdeling veel ervaring met dit model. Het dier zal onder narcose gebracht worden en er zullen hartritmestoornissen opgewekt worden met dofetilide, vervolgens zal dantrolene of flecainide toegediend worden om de hartritmestoornissen te stoppen. Ook zal gekeken worden of vernakalant hartritmestoornissen kan opwekken. Dantrolene, flecainide en vernakalant zullen in elk dier getest worden met tussenpozen van minimaal 2 weken. Alle procedures zullen plaatsvinden onder narcose.

Titel studie: Het effect van vaccinatie op regulatoire T cellen
DEC nummer: 2012.II.08.114

Het bepalen van nieuwe kenmerken voor vaccin-veiligheid
Achtergrond: In zeldzame maar ernstige gevallen kunnen vaccins bijdragen aan het ontstaan van reacties van het immuunsysteem tegen lichaamseigen stoffen (autoimmuniteit). Er is nog maar weinig bekend over hoe dit precies veroorzaakt wordt. Een specifiek type witte bloedcellen, regulatoire T cellen, kan immuunreacties onderdrukken en ook reacties op lichaamseigen stoffen verminderen. Daarom wordt met dit onderzoek bestudeerd hoe vaccins deze cellen precies beïnvloeden. In de toekomst kunnen nieuwe vaccins daarop getest worden, om veilig gebruik te garanderen.
Doel/hypothese: Onderzoeken wat het effect is van verschillende door mensen gebruikte vaccins op een groep witte bloedcellen, namelijk regulatoire T cellen, om te bepalen welke effecten nog veilig zijn.
Globale aanpak vraagstelling: Om zo goed mogelijk de menselijke situatie na te bootsen waarbij alle cellen van het immuunsysteem samenwerken, zullen muizen eenmalig worden ingeënt met door mensen gebruikte vaccins of vaccinbestanddelen waarna de effecten op verschillende witte bloedcellen zullen worden onderzocht.

Titel studie: Immunisatie van kippen met recombinante HA eiwitten verkregen van verschillende H5N1 virussen
DEC nummer: 2012.II.08.115

Bescherming tegen influenza door middel van vaccinatie met een gezuiverd griepeiwit
Achtergrond: Vaccinatie is één van de meest efficiënte en kosteneffectieve maatregelen ter bescherming van pluimvee tegen een infectie van influenza. Vaccinatie zal niet alleen voorkomen dat verspreiding van de infectie plaatsvindt naar ander pluimvee, maar ook de kans sterk verminderen van de potentiële overdracht op de mens. Bescherming tegen influenza is voornamelijk gebaseerd op antistoffen opgewekt tegen de oppervlakeiwitten van het virus. Dit project richt zich op de ontwikkeling van eiwitvaccins gebaseerd op die oppervlakeiwitten. Deze hebben verschillende voordelen ten opzichte van huidige vaccins die gemaakt zijn van verzwakte/afgedode virussen. De eiwitvaccins kunnen gemakkelijk en goed zuiver gemaakt worden en er zal niet gewerkt hoeven te worden met virussen en de daarvoor bedoelde productiesystemen. Nog een groot voordeel is dat een vaccin relatief snel kan worden aangepast aan nieuwe opkomende influen-

zavirussen. Naast de ontwikkeling van vaccins is het ook belangrijk om inzicht te hebben in welke virussen circuleren in een bepaalde regio. Alleen dan kan er gekozen worden voor de beste vaccinkandidaat.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om de kwaliteit van de antilichaam response te bepalen als er gevaccineerd wordt met verschillende eiwitvaccins in kippen. Daarnaast worden deze goed gekarakteriseerde kippensera gebruikt als referentiesera om een test te ontwikkelen om snel inzicht te krijgen in welke virussen circuleren in een land of regio.
Globale aanpak vraagstelling: Kippen worden gevaccineerd (onder verdoving) in de borst- of dijbeenspier met de verschillende eiwitvaccins. Na 3 weken wordt er bloed afgenomen bij alle vogels om inzicht te krijgen in de opgewekte response. Diezelfde dag wordt er nogmaals gevaccineerd om een goede antilichaamresponse te verzekeren, waarna weer na 3 weken bloed verzameld wordt. Aangezien de eiwitvaccins uiteindelijk bestemd zullen zijn voor het doeldier de kip, zal dit experiment in kippen plaats vinden. De resultaten zullen direct vertaalbaar zijn voor de uitkomsten in de praktijk zonder eerst een vertaalslag te moeten maken van een celcultuur aanpak of een ander modeldier.

Titel studie: Instandhouding tekenkolonies
DEC nummer: 2012.II.08.116

De rol van teken in de overdracht van ziekten bij mens en dier
Achtergrond: Teken zijn na muggen de belangrijkste overdragers van ziekten bij mens en dier. Het meest bekende voorbeeld is de ziekte van Lyme bij mens en bloedwateren bij de hond. De manier waarop teken ziekten overdragen is lang niet altijd duidelijk en daarom wordt er in ons onderzoek gekeken of speeksel en/of feces besmet is met ziekteverwekkers.
Doel/hypothese: Onbesmette teken afkomstig van konijnen en runderen worden kunstmatig besmet met verschillende ziekteverwekkers om te kijken of, en zo ja, hoe snel de teken deze ziekteverwekkers kunnen overdragen.
Globale aanpak vraagstelling: Om de rol van teken in de overdracht van ziekteverwekkers te kunnen bepalen zijn er schone teken van hetzelfde stadium en gelijke leeftijd nodig. Dergelijke teken kunnen alleen in voldoende aantallen worden gevoed op konijnen (onvolwassen stadia) en runderen (volwassen teken). Vervolgens worden de schone teken kunstmatig geïnfecteerd in het lab zonder proefdieren d.m.v. het voeden met besmet bloed door een siliconen membraan. Na vervelling tot het volgende stadium wordt gekeken of de teken de ziekteverwekker kunnen overdragen en zo ja hoe snel. Door de in vitro methode is het niet nodig om dieren bv. honden te besmetten met ziekteverwekkers. Omdat het kunstmatig voeden van teken op membranen nog steeds een delicate aangelegenheid is die niet voor alle teken werkt en die bovendien tot dusver ongeschikt is om teken te produceren van voldoende kwaliteit is het essentieel om teken op de natuurlijke wijze op gastheren te voeden. Jeuk die ten gevolgde van het teken voeden optreedt veroorzaakt matig ongerief. Om de dierproef te verfijnen worden de konijnen uitgerust met een medical pet shirt waaronder de teken worden gevoed in plaats van op de oren.

Titel studie: De rol van Toll-like receptor 4 inhibitor in arteriogenese
DEC nummer: 2012.II.08.117

De rol van een specifieke Toll-like receptor 4 remmer op vaatgroei en weefseldoorbloeding
Achtergrond: Aanmaak en groei van nieuwe vaten kan in het geval van een slagaderafsluiting zorgen voor herstel van de toevoer van zuurstof- en voedingsstoffen in het aangedane weefsel. Eerder onderzoek heeft uitgewezen dat er een belangrijke rol is weggelegd voor Toll-like receptor 4 binnen het proces van nieuwe vaatvorming. In deze studie willen we onderzoeken wat de rol van een specifieke Toll-like receptor 4 remmer is in het proces van nieuwe vaatgroei in een muismodel van achterpoot ischemie.
Doel/hypothese: Doel is het onderzoeken van het effect van het remmen van Toll-like receptor 4 op het herstel van bloedtoevoer in een muismodel voor achterpoot ischemie.

Globale aanpak vraagstelling: Nieuwe vaatgroei is een ingewikkeld proces waarbij verschillende, veel nog onbekende, factoren betrokken zijn. Deze factoren komen zowel uit het bloed als het omliggende weefsel waarin de vaten groeien. Een intact diermodel is daarom noodzakelijk om het proces zo natuurgetrouw mogelijk te kunnen bestuderen. Binnen deze studie zullen muizen een afgebonden beenslagader krijgen in de rechterachterpoot om vaatafsluiting na te bootsen, waarna de Toll-like receptor 4 remmer lokaal wordt ingespoten in de spier vlak na de operatie. De controle muizen krijgen een placebo toegediend, in dit geval fysiologisch zout. Voor en na de operatie, op dag 4 en 7 wordt door middel van een Laser-Doppler techniek het herstel van de weefseldoorbloeding in de gaten gehouden. Op dag 7 worden de muizen getermineerd en waarna de spieren, beenmerg en bloed uitgenomen worden voor verdere analyse.

Titel studie: Optimalisatie Hsp70 peptide vaccinatie tegen experimentele artritis II
DEC nummer: 2012.II.08.118

De rol van regulatoire T cellen in reumatoïde artritis
Achtergrond: Stress of "Heat shock" eiwitten spelen een belangrijke rol bij reuma. Wij onderzoeken afweercellen (regulatoire T cellen) die deze eiwitten herkennen. Wanneer deze afweercellen de heat shock eiwitten zien, helpen zij de ziekte onder controle te krijgen in ons experimenteel reuma model.
Doel/hypothese: Wij willen de immuunrespons in de chronische ontstekingsziekten, zoals reuma, colitis en diabetes, beïnvloeden door regulatoire T cellen te leren om dit te onderdrukken. We verwachten dat door het aanmaken van deze regulerende afweercellen in patiënten (in ons geval muizen) de ziekte vermindert.
Globale aanpak vraagstelling: We vaccineren muizen met een fragment (peptide) van heat shock eiwitten zodat het immuunsysteem erop kan reageren met de aanmaak van regulatoire T cellen. In dit onderzoek willen we zoeken naar de meest optimale wijze van toediening van het peptide onder omstandigheden die de aanmaak van peptide-specifieke regulerende T cellen bevorderen. Vanwege de complexiteit van de immuun response is het niet mogelijk dit te vervangen door bijvoorbeeld computer modellen. Waar mogelijk worden wel verdere in vitro experimenten uitgevoerd met materiaal afkomstig uit deze dieren om zo de resultaten beter te kunnen interpreteren. Dit is gebaseerd op experimenten beschreven in de literatuur en ervaring binnen onze groep met diermodellen en de te analyseren parameters.

Titel studie: The effect of age on the development of chronic renal disease
DEC nummer: 2012.II.08.119

De invloed van leeftijd op de ontwikkeling van nierschade
Achtergrond: Oudere mensen hebben vaker problemen met de nieren, ook wel nierfalen of chronische nierschade genoemd. Bovendien zijn de problemen bij oudere mensen vaak ernstiger. Nierschade gaat bijna altijd gepaard met verlittekening. In een eerdere studie bij ons in het lab hebben wij gezien dat oudere muizen wel meer schade maar minder verlittekening hebben ten opzichte van jonge muizen. Om nu uit te zoeken of de vermindering van verlittekening wellicht de oorzaak is van de toegenomen schade (omdat verlittekening ook goede eigenschappen met zich meebrengt), willen wij jonge en oude muizen nierschade toebrengen en met elkaar vergelijken.
In hetzelfde eerdere onderzoek zagen wij dat het litteken onderdrukkende eiwit Bone Morphogenetic Protein 6 (BMP6) verhoogd was in oudere muizen nieren. Nu zou het kunnen dat deze factor verantwoordelijk is voor de verlaagde littekenvorming in oudere nieren. Om dit te onderzoeken willen wij graag BMP6 inspuiten in jonge dieren om zo te zien of dit bij hen ook leidt tot minder littekenvorming en betere regeneratie van de nier. Dit ten opzichte van oude dieren waar de litteken vorming al lager is, maar de regeneratie niet meer mogelijk is.
Doel/hypothese: Wij denken dat wij effectief en succesvol aan kunnen tonen dat op jonge leeftijd de verlittekening zorgt voor beperkt herstel, terwijl op oudere leeftijd het gebrek aan verlittekening juist zorgt voor toenemende schade. Ook

verwachten wij dat BMP6 hiervoor de verantwoordelijke factor is. Onze hypothese is dan ook dat bij BMP6 therapie de regeneratie van de nieren in jonge muizen vollediger is omdat de fibrose onderdrukt wordt. Jonge muizen zullen omdat hun regeneratieve capaciteit beter is dan die van oude muizen dus vollediger herstellen.
Globale aanpak vraagstelling: Helaas is het niet mogelijk om een complexe aandoening zoals chronische nierschade en de ontwikkeling van fibrose zonder proefdieren te bestuderen.
De studieopzet zal als volgt zijn: We hebben een groep jonge muizen en een groep oude muizen. Bij beide groepen binden wij de urineleider behorende bij de linker nier af (een zogenoemde eenzijdige/unilaterale ureter/urineleider obstructie (UUO)). Deze UUO is een veelgebruikte manier om chronische nierschade bij proefdieren te onderzoeken. We laten de linker nier 14 dagen afgebonden zitten en vergelijken vervolgens de vorming van fibrose en schade in de linker nier ten opzichte van de rechter nier en tussen de jonge en oude groep. Vervolgens zullen wij in een nieuw experiment jonge en oude muizen vlak na de UUO een hoge dosis BMP6 eiwit inspuiten om zo te kijken of de verhoogde BMP6 niveaus in oude muizen de verminderde fibrose vorming veroorzaken. Ook wordt op deze manier duidelijk of de fibrose in jonge dieren de regeneratie van de nier in de weg zit.

Titel studie: De rol van recombinant Fibronectine-EDA in arteriogenese
DEC nummer: 2012.II.08.120

Fibronectine-EDA variant als stimulator van vaatgroei en weefseldoorbloeding
Achtergrond: Aanmaak en groei van nieuwe vaten kan in het geval van een slagaderafsluiting zorgen voor herstel van de toevoer van zuurstof- en voedingsstoffen in het aangedane weefsel. Eerder onderzoek heeft uitgewezen dat er een belangrijke rol is weggelegd voor het eiwit fibronectine-EDA variant binnen het proces van nieuwe vaatvorming. In deze studie willen we de behandeling met fibronectine-EDA in het proces van nieuwe vaatgroei in een muismodel van achterpoot ischemie onderzoeken. We zullen dit eiwit op twee manieren toedienen: injectie in de bloedbaan en injectie in de achterpoot spier (locaal) en vervolgens vergelijken met een placebo behandeling.
Doel/hypothese: Doel is het onderzoeken van de rol van fibronectine-EDA op het herstel van bloedtoevoer in een muismodel voor achterpoot ischemie. Daarin worden twee routes van injectie met elkaar vergeleken, ten opzichte van een placebo behandeling.
Globale aanpak vraagstelling: Nieuwe vaatgroei is een ingewikkeld proces waarbij verschillende, veel nog onbekende factoren, betrokken zijn. Deze factoren komen zowel uit het bloed als het omliggende weefsel waarin de vaten groeien. Een intact diermodel is daarom noodzakelijk om het proces zo natuurgetrouw mogelijk te kunnen bestuderen. Eerder binnen dit onderzoek hebben we een nieuw eiwit ontdekt dat sterk betrokken lijkt te zijn bij de vaatgroei in muizen. Nu willen wij dit eiwit gaan testen als behandeling voor achterpootischemie in hetzelfde muismodel. Binnen deze studie zullen muizen een afgebonden beenslagader krijgen in de rechterachterpoot om vaatafsluiting na te bootsen, waarna de fibronectine-EDA eiwit lokaal wordt ingespoten in de spier of in de bloedbaan in de ader in de staart van de muis vlak na de operatie. De controle muizen zullen een injectie krijgen met fysiologisch zout. Voor en na de operatie, op dag 4 en 7 wordt door middel van een Laser-Doppler techniek het herstel van de weefseldoorbloeding in de gaten gehouden. Op dag 7 worden de muizen getermineerd en waarna de spieren, beenmerg en bloed uitgenomen worden voor verdere analyse.

Titel studie: Food induced improvement of the immune system in the gut and its effect on vaccination, viral and bacterial infections
DEC nummer: 2012.II.08.121

Kunnen we de vroege afweerreacties in de darm stimuleren door middel van voeding en leidt dit tot een betere bescherming tegen ziekteverwekkers?
Achtergrond: Het afweersysteem in de darm vormt een belangrijke bescherming tegen binnen komende ziekte verwekkers. Een verbetering van de afweer in de darm door bv. voedingssuplementen en probiotica kan leiden tot een verhoogde bescherming tegen virussen en bacteriën. Op deze manier kunnen voedingssupplementen een alternatief vormen voor antibiotica. Het afweersysteem van neonaten verandert sterk bij de geboorte door stoffen die aanwezig zijn in bacteriën die de darm gaan vullen en stoffen uit voeding. Uit studies in zoogdieren blijkt dat m.n. voedingsstoffen belangrijk zijn voor de ontwikkeling van het afweersysteem. Voedingsstoffen en groeifactoren in moedermelk zetten specifiek het vroege afweersysteem (het gedeelte van het afweersysteem dat binnen enkele uren geactiveerd wordt na het binnendringen van een ziekteverwekker) aan. Ook stoffen uit planten en plantaardige producten kunnen de ontwikkeling van het vroege afweersysteem stimuleren. Of deze manier speelt voeding een belangrijke rol in de ontwikkeling van het vroege afweersysteem in pasgeborenen. In deze studie willen wij onderzoeken of ook in kippen (niet zoogdieren) het vroege afweersysteem gestimuleerd kan worden d.m.v. voeding. We willen kijken of we het afweer systeem in de darm van de kip kunnen stimuleren door het gebruik van specifieke voeding. Vervolgens bestuderen we of dit dan ook leidt tot een betere bescherming tegen ziekteverwekkers.
Doel/hypothese: De juiste voeding kan zorgen voor verbetering van het vroege afweersysteem in de darm en dit leidt tot een betere bescherming tegen ziekteverwekkers.
Globale aanpak vraagstelling: Om het effect van voedingssupplementen op de vroege afweerreactie in de darm van het dier te kunnen bestuderen zullen we niet uitkomen onder het gebruik van proefdieren. Het nabootsen van een darm met bijbehorende bloed in- en uitstroom is nog niet mogelijk. Vandaar dat we kippen een bepaald voer geven en op verschillende dagen de dieren doden. Vervolgens halen we de verschillende organen uit het dier en op het laboratorium halen we cellen van het immuunsysteem uit de darm. Deze cellen gaan we karakteriseren, tellen en we testen de activiteit van de afweercellen. Deze studie bestaat uit meerdere delen. In het eerste experiment willen we onderzoeken of we d.m.v. van voeding de activiteit van afweercellen kunnen vergroten. Dit doen we door de kippen twee weken te voeren met standaard voer en experimenteel voer. Daarna worden ze gevaccineerd en meten we hoe het afweersysteem op de vaccinatie reageert. In het tweede experiment voeren we de kippen twee weken met standaard voer en experimenteel voer, worden ze gevaccineerd en vervolgens geven we ze een virus en onderzoeken we of de kippen inderdaad beter beschermd zijn. In het derde experiment worden de kippen gevoerd, gevaccineerd en krijgen ze vervolgens een bacteriële infectie. Daarna wordt wederom gemeten of de kippen beter beschermd zijn.

Titel studie: Biocompatibility testing of Dyneema Purity® in the blood circulation of sheeps
DEC nummer: 2012.II.08.122

Dyneema Purity®: Een nieuw materiaal om kunststof vaatprothese en hartkleppen te ontwikkelen
Achtergrond: Bij noodzaak tot hartklepvervanging door verschillende redenen zijn er op dit moment twee verschillende prothesen beschikbaar, namelijk de mechanische (metalen) en de biologische hartklep. Beide kleppen zorgen voor stolling van het bloed. Hierdoor bestaat de absolute noodzaak tot antistolling. Tevens heeft een biologische klep het nadeel dat deze een beperkte levensduur heeft van 7 tot 10 jaar waarna er een re-operatie geïndiceerd is. Dit maakt de biologische hartklep ongeschikt voor implantatie voor lange tijd. De mechanische hartklep gaat weliswaar levenslang mee, maar heeft als bijkomend nadeel de noodzaak tot gebruik van sterke antistollings medicatie. Deze middelen geven een verhoogde kans op (hersen-)bloedingen. Dyneema Purity® fiber (UHMWPE, Ultra High Molecular Weight

Polyethylene) is een materiaal met een bijzondere eigenschap m.b.t. de sterkte. Het is ongeveer 15 keer sterker en ongeveer 7 keer flexibeler dan staal. Dat maakt dat een klep gemaakt van Dyneema Purity® fiber potentieel geschikter voor een duurzame hartklep ten opzichte van de biologische prothese. Ten tweede zal door de sterkte van de Dyneema Purity® fiber de klepbladen zo dun als een anatomisch blad gemaakt kunnen worden. Daardoor zal de opvouwbare Dyneema Purity® fiber klep via een kleinere toegangsweg geplaatst kunnen worden. De mate van stolling van Dyneema Purity® fiber zal vergeleken worden met deze bestaande materialen (de gouden standaard).
Doel/hypothese: Doel: Testen van de mechanische eigenschappen, biologische eigenschappen en de mate van de stolling van patches en hartklep gemaakt van Dyneema Purity®. Hypothese: De mechanische en de biologische eigenschappen van de hartklep gemaakt uit Dyneema Purity® is minstens even goed als de bestaande hartkleppen. Ook activeert Dyneema Purity® de bloedstolling minder dan al bestaande materialen.
Globale aanpak vraagstelling: In dit experiment zullen schapen in 4 verschillende groepen geopereerd worden. Groep 1: In deze groep worden patches (lapjes) van Dyneema Purity en 3 andere test materialen in de halsaders en slagaders geplaatst. Ook word er een lapje in de thoracale aorta geplaatst (soort wapperend vlaggetje dat de klep nabootst). De schapen worden na ten minste 4 uur getermineerd waarbij het materiaal wordt geoogst (Acute schapen). Groep 2: Zelfde als in groep 1. Maar nu terminatie na 24 uur, 1 week en na 6 weken (Chronische schapen). Groep 3: In deze groep wordt een hartklep van het schaap vervangen door een hartklep gemaakt van Dyneema Purity. Het schaap zal na 4 uur worden getermineerd waarbij de hartklep wordt geoogst (Acute schapen). Groep 4: Zelfde als in groep 3. Maar nu terminatie na 24 uur, 1 week en na 6 weken (Chronische schapen).

Huisvesting schapen.



Titel studie: Rol van fibronectine-EDA in hypertrofische en gedilateerde cardiomyopathie
DEC nummer: 2012.II.08.124

Rol van EDA-eiwit in de kwaadaardige vergroting en verstijving van het hart
Achtergrond: We hebben ontdekt dat een eiwit genaamd "EDA" in gezonde hartspiercellen voorkomt wanneer deze onder grote druk moeten werken na een hartaanval. Wij denken dat EDA een rol kan spelen in hartziektes waarbij het hart slecht functioneert doordat het verdikt, vergroot en tegen een grote druk moet pompen, zoals bij hoge bloeddruk, hartklepvernauwing en hartfalen zonder hartaanval als oorzaak. Nu willen we experimenten uitvoeren om uit te zoeken of EDA inderdaad bij hartkamervergroting en -verdikking een rol speelt. Zo ja, dan kunnen we middels een nieuw medicijn, wat nog in ontwikkeling is in ons laboratorium, proberen het hart beter te laten functioneren.
Doel/hypothese: Het doel is om de functie van EDA te ontrafelen in het hart wanneer deze tegen hoge druk moet pompen. De verwachting is dat wanneer EDA niet aangemaakt kan worden of geremd wordt, het hart minder dik en minder uitzet bij hoge pompdrukken.
Globale aanpak vraagstelling: We zullen in hartspiercellen, geïsoleerd uit ratten, bestuderen wat voor effecten EDA heeft op celfunctie en biologische processen. Daarnaast zullen we in muizen bestuderen wat het effect is wanneer muizen EDA niet kunnen aanmaken en het hart tegen een hoge druk moeten pompen. Wanneer blijkt dat EDA een cruciale rol speelt bij de ontwikkeling van hartfalen, zullen we met een nieuw experimenteel antistof proberen muizen te behandelen tegen hartfalen.

Titel studie: Spacemaker vs conventional approaches: Hemodynamic, ventilatory parameters and lung tissue injury in acute and chronic pigs
DEC nummer: 2012.II.08.125

De Spacemaker vs. conventionele benaderingen: hemodynamische, ventilatoire parameters en longschade in acute en chronische varkens
Achtergrond: "Cardio-thoracale chirurgie" (chirurgie aan hart en longen) wordt gekenmerkt door zijn invasieve karakter. Dit invasieve karakter manifesteert zich o.a. door grote wonden en een langdurige herstelperiode na de operatie. Om de invasiviteit van "cardio-thoracale chirurgie" te beperken wordt gekeken naar chirurgische benaderingen die minder invasief zijn: minimaal invasieve chirurgie. Tijdens minimaal invasieve "cardio-thoracale chirurgie" wordt een veel kleinere wond gemaakt in vergelijking met traditionele cardio-thoracale chirurgie. Helaas wordt het zicht tijdens een minimaal invasieve operatie in de borstholte door de beademde long beperkt. Om dit zicht te verbeteren zijn er verschillende technieken beschikbaar om de long "opzij" te drukken. Ondanks het feit dat deze technieken de long goed "opzij" kunnen drukken hebben deze technieken ook nadelige effecten op de bloedsomloop en beademing. Hierdoor kan het voor de chirurg wel mogelijk zijn om de operatie uit te voeren, maar is het door deze nadelige effecten voor een anesthesioloog niet altijd mogelijk om de patiënt "stabiel" te houden. Om dit probleem op te lossen is een nieuw chirurgisch hulpmiddel ontwikkeld, welke de long als een soort van "opblaasbare longspatel" tijdens de operatie opzij houdt. Deze kan via een kleine opening van 3 cm tussen de ribben door worden ingebracht en aan het eind van de ingreep weer worden verwijderd. De "Spacemaker" zou het mogelijk moeten maken om de long "opzij" te duwen, zonder de eerder genoemde nadelige effecten te veroorzaken. Eveneens mag de "Spacemaker" geen (blijvende) schade aan de weefsels aanbrengen.
Doel/hypothese: Om een indruk te krijgen van de directe effecten van de "Spacemaker" op de bloedsomloop en beademing willen we het eerst bestuderen in een proefdiermodel, alvorens dit in een humane situatie te evalueren. Wij verwachten dat de "Spacemaker" geen nadelige effecten op de bloedsomloop en beademing heeft. Daarnaast wordt er onderzocht of het gebruik van de "Spacemaker" op langere termijn nog weefselschade teweeg brengt.
Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek zullen we de "Spacemaker" implanteren in een proefdier (varken). Alvorens de "Spacemaker" te implanteren zullen we enkele metingen doen aan de bloedsomloop en beademing om

de uitgangssituatie vast te leggen. Vervolgens zullen na implantatie deze parameters intervalsgewijs wederom bepaald worden om te evalueren wat de effecten zijn van “Spacemaker” implantatie. Nadat de “Spacemaker” enkele uren in het proefdier op zijn plaats heeft gezeten en de effecten van langdurige implantatie derhalve bepaald zijn zal het leven van het proefdier beëindigd worden en de weefselschade aan de long worden bepaald.
De ontwikkeling van de “Spacemaker” dient een groot maatschappelijk belang. Vandaag de dag kunnen oudere patiënten en/of patiënten met meerdere aandoeningen naast elkaar soms niet geopereerd worden, omdat de risico’s voor een traditionele operatie te groot zijn en niet afwegen tegen het voordeel van behandeling en de huidige minimaal alternatieve technieken een onvoldoende alternatief bieden. Met de ontwikkeling van de “Spacemaker” zou het in de toekomst mogelijk moeten zijn om patiënten die tot op heden inoperabel verklaard werden, toch voor een minimaal invasieve behandeling in aanmerking te laten komen. Aangezien de “Spacemaker” een experimenteel chirurgisch hulpmiddel is, is dit hulpmiddel nog niet in de mens getest. Indien dit experimentele hulpmiddel nu in de mens getest zou worden zou dit gevaar kunnen vormen voor de proefpersonen. Zo zou het kunnen zijn dat ook de “Spacemaker” effect heeft op de bloedsomloop en de beademing. Indien dit ontdekt zou worden bij toepassing in de mens zou dit er voor kunnen zorgen dat patiënten in kritieke toestand gebracht worden. Omdat het optreden van zulke problemen in menselijke vrijwilligers absoluut voorkomen dient te worden zouden wij dit graag eerst in het proefdiermodel onderzoeken.

Titel studie: Reductie van Campylobacter in vleeskuikens
DEC nummer: 2012.II.08.126

Reductie van Campylobacter in vleeskuikens door aminozuur afname
Achtergrond: De darmflora blijkt zeer belangrijk te zijn voor het algemeen welzijn van dier en mens en biedt bescherming tegen bacteriële ziekteverwekkers. De aard van de actieve componenten in de darm is afhankelijk van de beschikbare voedingsstoffen en de metabole producten geproduceerd door de darmflora. Door het dieet te veranderen van landbouwhuisdieren zal een verandering plaatsvinden in de samenstelling van de micro-organismen in de darm waardoor lokale metabole condities in de darm veranderen. De verandering van darm condities is ook van invloed op pathogene bacteriën die door het juiste dieet te geven het moeilijker hebben om in de darm te overleven. De darmbacterie Campylobacter jejuni komt bij veel warmbloedige dieren als een onschuldige bacterieel voor maar voor de mens is het een pathogeen. Wereldwijd is Campylobacter de belangrijkste veroorzaker van diarree bij de mens. De aminozuren serine, aspartaat, glutamaat en proline zijn de primaire energiebron voor C. jejuni omdat suikers niet door dit organisme kunnen worden metaboliseerd. Door het elimineren van voor C.jejuni essentiële aminozuren in het voedsel van kippen hopen we de hoeveelheid C.jejuni in kippen sterk te verminderen.
Doel/hypothese: Het doel van dit project is om te onderzoeken of het mogelijk is de hoeveelheid C.jejuni bacterie in kippen te verlagen door de aminozuur samenstelling het kippenvoer aan te passen.
Globale aanpak vraagstelling: De belangrijkste bron van campylobacteriose bij de mens is de consumptie van pluimveevlees besmet met Campylobacter jejuni. Het hoge percentage van de pluimveestapel dat besmet is met C.jejuni geeft niet alleen aanleiding tot een groot aantal humane infecties, maar leidt tevens tot aanzienlijke ziektekosten. Reductie van C.jejuni in de pluimveestapel leidt tot vermindering van de door Campylobacter veroorzaakte ziekte bij de mens. Om een reductie van C.jejuni in kippen te kunnen vaststellen kunnen we er niet om heen om kippen te bemonsteren voor het voorkomen van C. jejuni. Echter de hoeveelheid kippen kan sterk beperkt worden door de C.jejuni populatie in individuele kippen te volgen in plaats van in groepen wat meer gangbaar is voor het bestuderen van C.jejuni in kippen. De nieuwe techniek toegepast in dit onderzoek kan in de toekomst indien succesvol vele kippenlevens besparen.

Titel studie: Verzamelen van vitaal materiaal van varkens kadavers
DEC nummer: 2012.II.08.127

Verzamelen van vitaal materiaal van varkens kadavers voor onderzoek naar MRSA (ziekenhuisbacterie)
Achtergrond: Methicilline resistente Staphylococcus aureus (MRSA, ook wel ziekenhuisbacterie) vormt een probleem bij mens en dier. Om verschillende aspecten van dit probleem te onderzoeken is een methode ontwikkeld die de mogelijkheid biedt om van dode dieren materiaal te verzamelen om in het laboratorium te gebruiken voor onderzoek. Dit biedt niet dezelfde mogelijkheden als wanneer een compleet dier wordt gebruikt, maar uitermate geschikt voor het aanpassen van methoden. Door deze materialen in te zetten voor sommige onderzoeken zal verder onderzoek met proefdieren niet nodig zijn.
Doel/hypothese: Het doel is om vitaal materiaal te verzamelen van varkens kadavers zodat dit in een laboratorium gebruikt kan worden voor onderzoek ter vervanging van of als opstap naar een dierproef.
Globale aanpak vraagstelling: Er worden geen proefdieren ingezet voor dit onderzoek. Er worden simpelweg delen van kadavers “hergebruikt”. De dieren zijn voor een ander onderzoek geëuthanaseerd.

Titel studie: The role of neutrophils in IFNGr1 deficient mice on influenza induced weightloss
DEC nummer: 2012.II.08.128

De rol van het ontstekingseiwit Interferon gamma tijdens het ziekteverloop van een griep-infectie
Achtergrond: Tijdens een griepinfectie is het vaak niet het virus dat verantwoordelijk is voor de ziekteverschijnselen maar het eigen immuunsysteem. Van een bepaald type witte bloedcellen (T-cellen) is aangetoond dat deze schade kunnen veroorzaken. In eerdere studies werd gevonden dat een ander type witte bloedcel namelijk de neutrofiel, T-cellen kan remmen. Dit remmend effect kon in celkweek (in een schaaltje) versterkt worden door toevoeging van het ontstekingseiwit Interferon gamma.
Doel/hypothese: In deze studie willen we bekijken of muizen die ongevoelig zijn voor het eiwit Interferon gamma, tijdens een griepvirus infectie ernstigere ziekteverschijnselen vertonen. Verder willen wij kijken of de ernst van de ziekte minder wordt zodra muizen neutrofielen krijgen die wel gevoelig zijn voor Interferon gamma.
Globale aanpak vraagstelling: Het is helaas niet mogelijk om deze studie in mensen of in computermodellen uit te voeren. Mensen die ongevoelig zijn voor Interferon gamma, zijn namelijk uiterst zeldzaam. Ook willen wij de milt en longen onderzoeken en dat kan bij mensen niet. Het gebruik van computermodellen is niet mogelijk omdat er erg weinig bekend is over de processen die hier een rol spelen. Het gebruik van cellijnen is niet mogelijk omdat er geen cellijnen zijn met volledig functionele neutrofielen.

Titel studie: Het effect van pre-/probiotica op de galectinregulatie bij koemelkallergie (CMA) in Balb/c, C57BL/6 en C3H/HeOuJ muizen
DEC nummer: 2012.II.08.129

De rol van galectins in koemelkallergie
Achtergrond: De incidentie van allergische aandoeningen, zoals voedselallergie, is enorm toegenomen de afgelopen jaren. Er is veel belangstelling voor therapieën om voedselallergie te voorkomen en te behandelen. Dieetinterventies zijn hierbij een mogelijke toepassing. Er is echter nog weinig bekend over hoe deze dieetcomponenten werken. Uit recent onderzoek blijkt galectin-9 een rol te spelen bij het verminderen van de symptomen van allergie. Naast galectin-9 zijn er echter meer galectins met een immuunmodulerende en/of een beschermende functie. Met deze studie wordt dan ook onderzocht welke galectins een rol kunnen spelen bij koemelkallergie. Daarnaast wordt bekeken wat de betrokkenheid van galectins is bij preventie van koemelkallergie door dieetcomponenten. Wanneer bekend is welke galectins een rol

spelen en hoe ze dit doen, kunnen er directe componenten of nog effectievere dieetcomponenten worden ontwikkeld die gebruikt kunnen worden in de preventie en/of de behandeling van (koemelk)allergie.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is het ontwikkelen van (preventieve) therapieën voor de preventie en/of behandeling van koemelkallergie en opheldering van de onderliggende mechanismen waarbij wordt gekeken naar galectins.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie wordt de rol van galectins op het ontstaan en de behandeling van voedselallergie onderzocht. Er wordt gebruik gemaakt van een muismodel waarin verschillende parameters gemeten worden, zoals allergeen specifiek IgE, IgG's, huidtest, T-cel restimulatie, flowcytometrie, histologie (darm, oor) en darmpermeabiliteit. Het meten van dit soort parameters is niet mogelijk in de mens. Dit onderzoek is van belang om het onderliggende mechanisme op te helderen en voor de preventie en behandeling van voedselallergie.

Titel studie: Een pilot studie om de interactie van IBV met gastheerfactoren, in het bijzonder collectines van het innate immuunsysteem in de long van de kip, te besturen
DEC nummer: 2012.II.08.130

Ontwikkeling van nieuwe preventie strategieën tegen Infectious Bronchitis Virus (IBV) in de kip
Achtergrond: Infectieuze Bronchitis Virus (IBV) in de kip is een virale luchtweginfectie die de gezondheid en het welzijn van de kip ernstig aantast. De huidige vaccins voldoen niet om kippen tegen IBV te beschermen. Om nieuwe vaccins te ontwikkelen is meer kennis nodig over hoe IBV de kip ziek maakt. Dit onderzoek zal zich richten op het ophelderen van de interacties tussen het virus en de kip, door gebruik te maken van weefsels afkomstig uit de kip en specifieke geïsoleerde eiwitten (surfactant eiwit A) betrokken bij de aangeboren immuunrespons. Het voorgestelde onderzoek kan leiden tot nieuwe preventiestrategieën tegen IBV, zoals vaccins en drugs, waardoor de gezondheid en het welzijn van kippen toe zal nemen.
Doel/hypothese: Doel: Het ophelderen van de interactie tussen het virus en eiwitten van de aangeboren immuunrespons aanwezig in de long van de kip. Hypothese: Het identificeren van specifieke kippenfactoren waarmee IBV een interactie aangaat in de kip kan aanwijzingen geven voor de ontwikkeling van nieuwe strategieën om IBV infecties te voorkomen.
Globale aanpak vraagstelling: Uit geëuthanaseerde kippen zullen weefsels en specifieke eiwitten die mogelijk betrokken zijn bij de aangeboren immuunrespons in de luchtwegen worden geïsoleerd. Hiermee zullen verdere laboratoriumstudies worden gedaan om de interacties tussen het virus en de kip te bestuderen. Alternatieven om deze specifieke immuuneiwitten in het lab te produceren zijn niet succesvol gebleken, daarom zijn dieren de enige mogelijke bron van deze eiwitten op dit moment. Weefsels die verzameld worden uit een dier kunnen voor vele studies worden gebruikt en maken experimentele infecties voor bepaalde onderzoeken overbodig, waardoor het aantal proefdieren gereduceerd wordt.

Titel studie: Validatie van een ischemisch hartfalen model met behulp van Magnetic Resonance Imaging (MRI)
DEC nummer: 2012.II.08.131

Onderzoek naar een betrouwbaar en representatief model voor hartfalen na zuurstoftekort van de hartspier met behulp van Magnetic Resonance Imaging (MRI)
Achtergrond: Ongeveer een miljoen mensen in Nederland is aangedaan door hartfalen. Hartfalen ontstaat meestal doordat hartspiercellen verzwakt raken of afsterven, bijvoorbeeld na een hartinfarct. Een hartinfarct wordt meestal veroorzaakt door afsluiting van een kransslagader die het hart van bloed voorziet. Uit recent onderzoek is gebleken dat stamceltherapie een gunstig effect heeft op de pompfunctie van het hart in patiënten met hartfalen, echter zijn de resultaten nog niet optimaal. Hierdoor wordt er gezocht naar een effectievere manier om deze stamcellen in het hart van patiënten te krijgen en deze gedurende langere termijn te behouden met als doel het effect van stamceltherapie te vergroten. Om effectiviteit

van deze nieuwe stamceltherapieën aan te tonen, voordat het in de mens gebruikt kan worden, is het belangrijk om deze therapieën te testen in een groot proefdiermodel. Het in beeld brengen van deze effectiviteit wordt onder andere gedaan met MRI. Op deze wijze weten onderzoekers vrij zeker dat een bepaalde therapie veilig is in de mens. Bovendien worden niet effectieve therapieën niet overbodig getest in mensen die hier geen profijt van hebben. Om zowel stamceltherapie als MRI te optimaliseren, is er een proefdier model nodig met een aandoening die erg veel gelijkenissen vertoont met hoe deze aandoening zich manifesteert in de mens. In dit specifieke geval is deze aandoening hartfalen.
Doel/hypothese: Deze studie heeft tot doel een varkensmodel van hartfalen te creëren, welke het mogelijk maakt om de effectiviteit van therapieën te testen. Daarnaast willen wij dit hartfalen model met MRI in beeld brengen, om scantechnieken te ontwikkelen waarbij geen contrastmiddelen nodig zijn en in de toekomst het effect van de stamceltherapie gemonitord kan worden. De nieuwe therapie en beeldvormende technieken kunnen in de toekomst ingezet worden in de strijd tegen hartfalen.
Globale aanpak vraagstelling: Onder algehele verdoving zal er in de varkens door middel van afsluiting in een kransslagader met een ballon gezorgd worden voor zuurstoftekort van de hartspier. Hierdoor sterft een deel van de hartspier af en zal het varken geleidelijk hartfalen ontwikkelen. Dit willen wij in beeld brengen met MRI. Hiermee willen wij een geschikt hartfalen model creëren om in de toekomst het effect van stamceltherapie te bestuderen en de beeldvorming te optimaliseren. De inzet van proefdieren is hierbij noodzakelijk omdat er geen betrouwbare en representatieve alternatieven voorhanden zijn die goed vergelijkbaar zijn met de mens. Gedurende het hele onderzoek zorgen we dat de dieren zo min mogelijk lijden, door adequate pijnstilling en omgang met de dieren.

Vergadering 19 september 2012

Titel studie: Arteriovenous grafting of in vivo tissue engineered blood vessel
DEC nummer: 2012.II.09.132

Functionaliteit van een tissue engineerd bloedvat na implantatie in de bloedbaan
Achtergrond: Patiënten met nierfalen zijn afhankelijk van een kunstnier (hemodialyse) voor de zuivering van afvalstoffen uit het bloed. Om het bloed van de patiënt naar de kunstnier te vervoeren, en na zuivering weer terug naar de bloedbaan van de patiënt, is een kunstmatig aangelegde vaatverbinding tussen 2 bloedvaten nodig. Helaas raakt die vaatverbinding vaak ernstig vernauwd, waardoor het niet meer goed bruikbaar is. Vandaar dat patiënten vaak herhaaldelijk operaties moeten ondergaan voor het aanleggen van een nieuwe vaattoegang.
Doel/hypothese: Het doel van het onderzoeksprogramma DialysisXS is om een nieuw bloedvat te maken in het lichaam van de patiënt zelf. Voor deze methode wordt handig gebruik gemaakt van een afweerreactie van het lichaam tegen een onderhuids ingebracht plastic staafje. Hierdoor ontstaat er een soort bindweefselcapsule om het staafje. Na verwijdering van de staaf, blijft alleen de buisvormige bindweefselcapsule over. Dit weefsel bevat veel essentiële bouwstoffen voor een bloedvat. Nadat dit weefsel in de bloedbaan wordt getransplanteerd, ontwikkelt het zich tot een volwaardig bloedvat, dat gebruikt kan worden als vaattoegang voor hemodialyse. Hiermee is de patiënt zelf feitelijk engineer van zijn eigen bloedvat.
Globale aanpak vraagstelling: Eerst wordt een staafje onderhuids in het varken ingebracht. 4 Weken later wordt de eromheen gevormde weefselcapsule in de bloedbaan geïmplanteerd en getest op de functionaliteit. Er wordt gekeken hoe het weefsel zich qua samenstelling ontwikkelt na implantatie in de bloedbaan en of het bloedvat open blijft.

Titel studie: Subcapsulair depot voor afgifte van eiwitten in de nier
DEC nummer: 2012.II.09.133

Lokale toediening van medicatie tegen chronische nierschade
Achtergrond: Op het ogenblik wordt chronische nierschade behandeld met verschillende vormen van dialyse of een niertransplantatie. Deze behandelingen zijn zeer belastend voor de patiënt. Daarom zijn wij op zoek naar een alternatieve behandeling. Wij willen lokaal, onder het kapsel van de nier, medicatie toedienen. Met deze medicatie hopen wij het proces dat leidt tot chronische nierschade te stoppen. Hierdoor zullen de patiënten niet of minder snel met de huidige behandelingen worden behandeld. Dit zal leiden tot een aanzienlijke verbetering van de kwaliteit van leven. Door medicatie lokaal toe te dienen kan er lokaal een hogere dosis worden bereikt van de medicatie in tegenstelling tot de concentratie in het lichaam. Hierdoor zullen er minder bijwerkingen zijn.
Doel/hypothese: Onderzoeken hoe een geneesmiddel in het nierparenchym afgegeven wordt vanuit een lokaal toegediend depotpreparaat. Het ontwikkelde depot zal het geneesmiddel gedurende 3-4 weken afgeven en zorgt voor een langdurige aanwezigheid van de medicatie in de nier.
Globale aanpak vraagstelling: Bij gezonde ratten wordt de medicatie onder het nierkapsel gespoten. Vervolgens wordt er onderzocht hoe het geneesmiddel zich over de nier verdeeld en hoe het vanuit het depotpreparaat afgegeven wordt. Wij willen de medicatie uiteindelijk lokaal gaan toedienen bij patiënten. Voordat dit gebeurt moet eerst de afgifte van de lokaal toegediende medicatie in proefdieren worden bewezen.

Titel studie: The role and function of CD8 T-cells in canine atopic dermatitis
DEC nummer: 2012.II.09.134

De rol van de CD8 T-cel bij honden met atopische dermatitis
Achtergrond: Atopische dermatitis (AD) is een genetisch beïnvloede huidallergie voor huisstofmijten en komt zowel bij de mens als bij honden voor. De aandoening heeft ernstige consequenties voor het welzijn en komt bij 10-15% van de honden voor. Gangbare behandelingen zijn zowel voor de hond als de mens in veel gevallen levenslang en met een wisselende effectiviteit. De allergie wordt manifest door een verstoring van het afweersysteem. Bepaalde groepen cellen (T lymfocyten) oefenen hun functie niet meer optimaal uit. Het onderzoek richt zich op het herstel van dit verstoorde T cel evenwicht.
Doel/hypothese: Onderzocht wordt hoe en in welke mate verschillende T-cellen kunnen bijdragen aan de ziekte atopische dermatitis bij de hond. Hierbij wordt gekeken naar de zogenaamde CD8 positief gemarkeerde T-cel en subtypen hiervan. Deze CD8 T-cel heeft als algemene functie het doden van andere zieke cellen. Het doel is een verbeterd inzicht te verkrijgen in de ontstaanswijze van deze aandoening, zodat de huidige therapieën in de toekomst kunnen worden geoptimaliseerd.
Globale aanpak vraagstelling: Aan de hand van in vitro experimenten (kweken van bloedcellen) zal onderzocht worden in welke mate subtypen van CD8 T-cellen van gezonde en atopische honden in staat zijn stoffen (cytokines) te produceren die het afweersysteem kunnen beïnvloeden en of er verschillen bestaan in deze tussen de gezonde en atopische honden. Er bestaat geen goed alternatief dier- of kunstmodel voor deze aandoening bij de hond.

Titel studie: Evasion Molecules in Staphylococcal Bovine Mastitis Vaccines- different adjuvancia and different application routes to increase the immune response
DEC nummer: 2012.II.09.136

Door Staphylococcus aureus geproduceerde eiwitten als basis van een entstof- de rol van verschillende dragerstoffen en toedieningsroutes op de afweerreactie van het rund
Achtergrond: Bacteriële ontstekingen veroorzaakt door Staphyloccus aureus komen veelvuldig voor bij mensen, maar ook bij koeien. Bij koeien is vaak de uier aangetast waardoor een uierontsteking ontstaat. De behandeling met antibiotica laat vaak maar een matig resultaat zien waardoor het welzijn van de koeien is aangetast en hun levensduur vaak verkort is. Daarom is het voorkomen van deze infectie van groot belang. Om ziekte door Staphylococcus aureus te voorkomen zou het mooi zijn om naast hygiëne- en managementmaatregelen ook vaccins in te kunnen zetten. De vaccins die tot nu toe beschikbaar zijn, geven helaas nog onvoldoende bescherming. Er is nog steeds een aantal punten met betrekking tot het afweersysteem van de koe die onvoldoende begrepen worden. Bij mensen is bekend dat met behulp van dragerstoffen in het vaccin het soort afweerreactie kan worden beïnvloed, hetzij in de richting van aanmaak van specifieke cellen hetzij in de richting van aanmaak van grote hoeveelheden specifieke antilichamen. Beide afweerreacties zijn ook bekend bij het rund, maar welk type dragerstof welke reactie teweeg kan brengen is nog onduidelijk. Ook de toedieningsroute van een vaccin kan het type afweerreactie beïnvloeden, waardoor de keuze voor een andere route mogelijk tot een betere bescherming van de uier zou kunnen leiden. Daarnaast is er een strikte scheiding tussen koe en uier, welke 'bloed-uier-barrière' genoemd wordt, en ervoor zorgt dat een afweerreactie die in de koe heeft plaats gevonden niet ook direct voor een afweerreactie in de uier hoeft te zorgen. De precieze regulatie van de barrière is niet bekend. Meer inzicht in de functie zal helpen een effectiever vaccin te ontwikkelen.
Doel/hypothese: Het doel van deze studies is het door middel van verschillende dragerstoffen en toedieningsroutes verschillende afweerreacties bij koeien te initiëren om een voor vaccinatie tegen uierontsteking beter geschikte combinatie te identificeren. Daarnaast is het doel om hiermee meer inzicht in de functie, de selectiviteit en de regulatie van de bloed-uier-barrière te krijgen.

Globale aanpak vraagstelling: Deze studie bestaat uit een aantal deelvragen die één voor één zullen worden aangegaan. (1) Een voorbeeld eiwit wordt aan verschillende dragerstoffen (cel stimulerend/antilichaam stimulerend) gekoppeld en als entstof via verschillende routes (spier/neus/darm /uier) worden toegediend waarbij gekeken wordt in hoeverre het type afweerreactie per dragerstof en route verschilt. (2) Omdat er bij de mens en het varken een link tussen de lokale afweer in de darm en die in de melkklier beschreven is, is het opvangen van lymfe uit de dunne darm na vaccinatie erg interessant. Een bestaande techniek waarbij lymfevaten gecanuleerd worden, zal aangepast worden om deze toe te kunnen passen om darm lymfe op te kunnen vangen. In deze lymfe kan dan de lokale afweerreactie van de darm gemeten en vergeleken worden met de afweerreactie in de uier. (3) Om een beter inzicht in het functioneren van de bloed-uier-barrière te krijgen zullen bij 2 groepen koeien die verschillend lang aan de melk zijn (begin lactatie/midlactatie) antilichamen en afweercellen uit melk en bloed worden gezuiverd en gelabeld worden. Door deze in de bloedbaan van de koe terug te brengen kan in kaart gebracht worden of de translocatie willekeurig gebeurt of dat de gelabelde cellen/antilichamen in grotere aantallen in de melk teruggevonden kunnen worden. Voor studie 1, 2 en 3 is de biologische interactie tussen toegediende stoffen met het dier vereist. Zonder het gebruik van het doeldier kunnen deze vragen niet beantwoord worden.

Titel studie: Function of AREG in the differentiation and survival of plasma cells
DEC nummer: 2012.II.09.137

Rol van Amphireguline in plasmacel ontwikkeling en levensduur
Achtergrond: Vaccinatie zorgt ervoor dat zogenaamde B cellen uitrijpen tot memory B cellen of plasmacellen. De functie van de plasmacel is antilichamen te maken, die het lichaam tegen infectie beschermen. Het is nog onduidelijk hoe lang plasmacellen leven en waarom sommige plasmacellen veel en andere weinig antistoffen maken. Wij hebben onlangs ontdekt dat plasmacellen na vaccinatie verhoogde hoeveelheden van de zogenaamde EGF receptor, die reageert op groeifactoren, op hun oppervlakte hebben. De groeifactor die aan deze receptor op plasmacellen bindt is “amphireguline” en amphireguline binding leidt tot een verminderde aanmaak van antilichamen. In de huidige studie willen we de effecten van amphireguline en consequenties voor antistofproductie verder onderzoeken.
Doel/hypothese: Ons doel is om te onderzoeken of amphireguline de uitrijping van B cellen in plasmacellen en de levensduur van plasmacellen direct beïnvloedt, of zijn invloed via andere intermediairen uitoefent. Verder willen we bepalen welke cellen het amphireguline, dat B cel ontwikkeling beïnvloedt, maken.
Globale aanpak vraagstelling: Ten eerste willen we normale (wild type) muizen vaccineren om daarna de plasmacellen te karakteriseren. Vervolgens zullen we dan muizen vaccineren die de EGF-R uitsluitend op T cellen of uitsluitend op B cellen bezitten, om na te gaan of amphireguline direct op de plasmacel of via de T cel (een celtype dat plasmacelontwikkeling beïnvloedt en onder bepaalde omstandigheden ook de EGF-R op zijn oppervlak heeft) werkt. Vervolgens zijn we van plan om verschillende gendeficiënte muizen of muizen waarin één bepaald celtype, gebruik makend van standaard methodes, verwijderd is te gebruiken om na te gaan welke cellen het amphireguline, dat een rol speelt in plasmacel ontwikkeling, maken. Dit onderzoek zal verder inzicht geven in de parameters die de mate en de duur bepalen van een door vaccinatie opgewekte bescherming. Gezien de huidige, nog geringe, kennis omtrent de rol van groeifactoren in plasmacelontwikkeling en antistofproductie, hebben we proefdiermodellen nodig om dit verder te ontrafelen.

Titel studie: Dissecting molecular mechanism that determine the functional capacity of regulatory T-cells in vivo
DEC nummer: 2012.II.09.138

Moleculaire mechanismen die de activiteit van regulatoire T cellen reguleren
Achtergrond: Hoe sterk het afweersysteem reageert tijdens infectie (tegen kanker) of tegen zichzelf (tijdens auto-immuunziektes) wordt bepaald door de activiteit van zogenaamde regulatoire T cellen. Regulatoire T cellen houden het afweer-

systeem onder controle. Het functioneren van de regulatoire T cel zelf wordt bepaald door het FOXP3 eiwit. We hebben geobserveerd dat bepaalde signalen in vitro tot een verandering van het in regulatoire T cellen aanwezige FOXP3 eiwit leiden, en daardoor de regulerende activiteit van de regulatoire T cel beïnvloeden.
Doel/hypothese: Onze hypothese is dat veranderingen in het FOXP3 eiwit, die een gevolg zijn van ontvangst van signalen via zogenaamde signaaltransductie routes en die de activiteit van regulatoire T cellen beïnvloeden, ook de regulatie van het afweersysteem beïnvloeden.
Globale aanpak vraagstelling: Om te onderzoeken of veranderingen in het FOXP3 eiwit invloed hebben op het functioneren van regulatoire T cellen in vivo, maken we gebruik van een model dat berust op "T cel transfer geïnduceerde darmontsteking (colitis)". In dit model worden colitis veroorzakende T cellen samen met regulatoire T cellen in een T cel-deficiënte muis gespoten. Voorafgaand aan injectie worden de regulatoire T cellen in vitro gemanipuleerd, waardoor bepaalde signaaltransductie routes aan- of uitgeschakeld worden. Vervolgens wordt gekeken in hoeverre deze regulatoire T cellen nog in staat zijn om colitis te verhinderen. We hopen hiermee ons inzicht in de regulatie van regulatoire T cel functie te vergroten. Dit kan leiden tot nieuwe therapeutische mogelijkheden voor ziektes waarin regulatoire T cellen een ziekteversterkende of -verminderende rol spelen. Aangezien afweerreacties heel complex zijn moeten dit soort "proof of principle" proeven in muizen uitgevoerd worden.

Titel studie: Targeted delivery of curcumin in murine antibody induced rheumatoid arthritis models
DEC nummer: 2012.II.09.139

Vergelijking van een afgiftesysteem met corticosteroïden of een natuurlijke verbinding voor de behandeling van reumatoide artritis
Achtergrond: Reumatoïde artritis (RA) is een chronische auto-immuun gewrichtsontsteking, waaraan ongeveer 1% van de wereldbevolking lijdt. De oorzaak van RA bestaat uit complexe factoren o.a. genetica, hormonaal, immunologisch, infectie milieu en fysiologische factoren. De huidige behandeling van reumatoïde artritis bestaat voornamelijk uit de remming van de ontsteking. Hiertoe worden de meeste patiënten behandeld met corticosteroïden, met helaas ernstige bijwerkingen bij een hoge dosis. Gevolg hiervan is dat er groeiende belangstelling is voor de kruidengeneeskunde, in het bijzonder curcumine, als alternatieve behandeling voor RA. Vooral met het oog op veiligheid en multifunctionele effecten willen wij het gebruik van curcumine testen.
Doel/hypothese: In deze studie worden drie geneesmiddelen (dexamethason, curcumine en met curcumine geladen polymere micellen) in een muismodel vergeleken op basis van hun effectiviteit voor de behandeling van RA.
Globale aanpak vraagstelling: RA wordt geïnduceerd bij de muizen door middel van injecties met een antilichaam cocktail. Dit is een gangbare methode beschreven in de literatuur. De muizen worden behandeld met een iv-injectie bestaande uit het afgiftesysteem met verschillende corticosteroïden. De effectiviteit van de behandeling wordt bepaald door het meten van de zwelling van de poten van de muizen. RA is een zeer slopende ziekte die regelmatig interventie met corticosteroïden vereist. Helaas, komen ernstige bijwerkingen vaak voor. Het onderzoek in dieren is nodig voor de beoordeling van de effectiviteit van de nieuwe formulering in het lichaam en om de ophoping in de gewrichten vast te stellen.

Titel studie: Extending the IgA half-life in vivo
DEC nummer: 2012.II.09.140

Verlenging van de in vivo halfwaardetijd van IgA antistoffen
Achtergrond: Antistoftherapie is een nieuwe behandelingsmethode voor kankerpatiënten. Er zijn verschillende soorten antistoffen zoals IgM, IgD, IgG, IgA en IgE. Op dit moment zijn alle therapeutische antistoffen van het IgG isotype, omdat deze het gemakkelijkst te maken is en deze het meest stabiel is in bloed. Echter, onderzoek in ons lab heeft aangetoond dat IgA antistoffen tumorcellen beter kunnen doden dan IgG. Dit moet eerst in muizen worden onderzocht, omdat de

stap naar patiënten op dit moment nog te groot is. Echter, IgA wordt sneller verwijderd uit het bloed dan IgG, waardoor IgA vaker toegediend moet worden.
Doel/hypothese: Het doel van dit experiment om strategieën te testen om de halfwaardetijd van IgA te verlengen.
Globale aanpak vraagstelling: Wij gaan verschillende type IgA antistoffen aan muizen toedienen. Na verschillende tijdspunten gaan wij bloed afnemen om in de lab de concentratie van antistof in de bloed te bepalen (met de hulp van een laboratoriumtest).

Titel studie: Regulation of intestinal inflammation by CD200R signaling
DEC nummer: 2012.II.09.141

De invloed van de remmende eiwit CD200 op de regulatie van de darm ontstekingen
Achtergrond: Verschillende auto-immuunziektes, bijvoorbeeld inflammatoire darmziekten (in Engels Inflammatory bowel disease IBD) worden veroorzaakt door ongecontroleerde ontstekingen. Daarom is het belangrijk om de imuunrespons streng te controleren. Het is niet bekend wat de oorzaak van deze ontsteking is of wat het mechanisme is van de ontwikkeling van de ontsteking. Een van de mechanismen die verantwoordelijk zijn voor deze controle zijn immuun remmende receptoren zoals CD200R. In dit experiment zullen we onderzoeken of de muizen zonder actieve CD200R toegenomen darmontsteking hebben.
Doel/hypothese: CD200R reguleert de ontwikkeling van de darmontsteking.
Globale aanpak vraagstelling: Een uitgewerkt model van IBD bestaat uit het drinken van een wasmiddel (detergent) Dextran Sulfate Sodium (DSS) in het drinkwater gedurende vijf dagen. Na die eerste periode zullen de muizen worden gevolgd voor een extra week. Een experimentele groep krijgt een therapeutische injectie om CD200R effecten te blokkeren. Aan het einde van het experiment zullen de muizen worden geëuthanaseerd waarna de darmen en de milt zullen worden geanalyseerd.

Titel studie: Effect van verlies MSP-RON signalling op darm regeneratie na schade
DEC nummer: 2012.II.09.142

Waarom hebben mensen met een verstoring in de msp-ron route een verhoogd risico op het krijgen van chronische darmontsteking?
Achtergrond: Uit eerder onderzoek is gebleken dat mensen die een defect hebben in het gen voor msp (een stofje gemaakt in de lever) of in het gen voor de receptor voor msp- ron (aanwezig op darmwandcellen en bepaalde afweercellen) een verhoogd risico hebben op het ontwikkelen van chronische darmontsteking. Hoe dit werkt weten we niet goed.
Doel/hypothese: In dit onderzoek willen we kijken of de darmwandcel (de epitheelcel) anders reageert op darmschade als de msp-ron (net als in patiënten) niet goed werkt.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek maken we gebruik van zebravissen waarbij het msp gen niet werkt. Deze vis staat model voor patiënten bij wie de msp-ron route niet werkt. Door deze vissen schade te geven in de darm, door een injectie van Ethanol (alcohol), willen we achterhalen wat er gebeurt met de darmwandcellen en afweercellen in de darm in af- en aanwezigheid van msp. Op deze manier kunnen we in een levend organisme, waarin alle cellen aanwezig zijn die ook in patiënten aanwezig zijn deze msp-ron route bestuderen. De vissen krijgen ontsteking in de darm maar genezen op termijn hiervan. Chronische darmontstekingen kunnen een hele hoop oorzaken hebben en tot nu toe worden alle patiënten met ongeveer dezelfde medicijnen behandeld. Het is dan ook meer symptoombestrijding dan echt genezen van de ziekte. Wij denken dat als we verschillende oorzaken kunnen onderzoeken, we nieuwe medicijnen kunnen ontwikkelen om het leven van patiënten met deze vorm van darmontsteking beter te kunnen behandelen.

Titel studie: Studie naar de ijzer kinetiek na toediening van complexe ijzerproducten met behulp van MRI
DEC nummer: 2012.II.09.143

Volgen van ijzer in ratten met behulp van MRI
Achtergrond: Patiënten met ijzertekort worden meestal behandeld met ijzerinjecties. Het nadeel van deze behandeling is dat ijzer schadelijk is voor de hart, lever en nieren. Wij willen bestuderen waarom dat zo is. We denken dat na injectie het ijzer snel ophoopt in deze organen en daarom schadelijk is. In dit experiment zullen we via MRI het ijzer volgen in verschillende organen in ratten na injectie. Dit heeft als voordeel boven de huidige methode dat er geen gebruik gemaakt hoeft te worden van radioactieve labeling en veel minder ratten nodig zijn voor het experiment.
Doel/hypothese: Volgen van ijzer op orgaanniveau in ratten m.b.v. MRI.
Globale aanpak vraagstelling: Er worden 16 ratten éénmalig i.v. geïnjecteerd met fysiologisch zout, of een ijzerproduct en er worden 16 ratten met fysiologisch zout of een ijzerproduct 5x geïnjecteerd met een totale dosis equivalent aan het éénmalige injectie. Vervolgens worden de ratten onder verdoving in het MRI gebracht en wordt de relatieve hoeveelheid ijzer in de organen getest. Na 24 uur worden de ratten gedood en geperfuseerd. Kinetiek van ijzer kan alleen in een intact organisme worden bestudeerd.

Titel studie: Pilot and validation study of the innovative catheter technology for minimally invasive endovascular procedures
DEC nummer: 2012.II.09.144

Een nieuwe innovatieve katheter technologie voor het optimaliseren van minimaal invasieve endovasculaire behandelingen
Achtergrond: Aorta aneurysmata (verwijdingen van de grote lichaam slagader) kunnen in veel gevallen worden gerepareerd door middel van een minimaal invasieve endovasculaire ingreep. Hierbij wordt er een katheter en voerdraad via de lies ingebracht, welke via de beenslagader naar plaats van interesse, kan worden genavigeerd. Dit gebeurd momenteel onder geleiding van (2D) doorlichting. Deze methode is technisch uitdagend en tijdrovend, hetgeen resulteert in (1) een verlengde procedure tijd, (2) lange stralings tijd en er is een (3) behoorlijke hoeveelheid contrast nodig. Een langere stralingstijd en hoog contrast is zeer nadelig, omdat de totale ontvangen stralingsdosis voor arts en patiënt ook toeneemt, hetgeen de kans op stralings-geïnduceerde ziekten kan vergroten. Er is een nieuwe innovatieve katheter technologie ontwikkeld waarmee de katheter naar de aorta kan worden genavigeerd in 3D en in real-time zonder gebruik te maken van straling. Hierdoor kan de behandeling
versneld worden met minder risico voor de patiënt. Omdat deze katheter geen gebruik maakt van straling voor contrast, kan deze techniek de totale straling die nodig is tijdens de procedure drastische verlagen.
Doel/hypothese: Dit onderzoek bestaat uit twee studies voor dezelfde technologie: een pilot studie en een validatie studie. Het doel van de pilot studie is om de accuratesse en technische haalbaarheid voor het toepassen van een minimaal invasieve operatie van aorta aneurysmata van de innovatieve katheter technologie te onderzoeken. Het doel van de validatie studie is om de katheter technologie te valideren door deze te vergelijken met de conventionele katheder en beeldvorming.
Hypothese: de innovatieve katheter technologie zal de behandeling van het repareren van aorta aneurysma's optimaliseren ten opzicht van conventionele katheters en doorlichting zal minder tijd kosten met grote kans op stralingsreductie.
Globale aanpak vraagstelling: In dit experiment zal er gebruik gemaakt worden van in totaal 13 varkens .In de pilot studie worden 4 varkens gebruikt, en voor de validatie zijn 9 varkens nodig. De eerste 4 varkens zijn nodig om verschillende protoypes te testen en om de technologie verder te kunnen optimaliseren voor de klinische workflow. Voor de validatiestudie zijn minimaal 8 dieren nodig, om de techniek te kunnen vergelijken met de huidige methode. Een negende dier

zal worden ingezet voor kalibratie van de meetmethoden om de wetenschappelijke kwaliteit van het onderzoek volledig te kunnen waarborgen. De experimentele behandeling bestaat uit twee behandelingen elk zal ongeveer 1 dagdeel in beslag nemen: Behandeling 1: Het dier wordt onder algehele narcose gebracht. Er wordt contrast toegediend en een Computed Tomography (CT) scan gemaakt. Hierna zal het dier moeten ontwaken uit de narcose. Behandeling 2: Het dier wordt een tweede maal onder algehele narcose gebracht. De nieuwe en oude katheter worden afwisselend via de lies ingebracht en naar de beoogde locatie van interesse genavigeerd. Ieder dier zal tweemaal worden gekatheteriseerd, eenmaal op de conventionele methode en eenmaal met de innovatieve katheter. Na afloop van deze tweede behandeling, zal het dier worden euthanaseert door middel van een overdosis. Hierna zal er pathologische onderzoek plaatsvinden om te controleren op afwijkende en beschadigde cellen rondom het katheter gebied. Alle handelingen vinden plaats onder narcose hetgeen gering ongerief voor het dier oplevert. Het dier zal echter twee keer onder narcose gebracht moeten worden omdat beide behandelingen niet op één dag kunnen worden uitgevoerd. Het dier zal eenmaal moeten ontwaken uit narcose hetgeen matig ongerief voor het dier zal zijn. Dit ongerief en het kleine aantal proefdieren dat nodig is voor dit onderzoek weegt op tegen de hoeveelheid informatie die wij met dit onderzoek kunnen verkrijgen welke niet op een andere manier meetbaar is.

Titel studie: Foetale humane cardiomyocyte progenitor cellen voor chronisch ischemisch hartlijden DEC nummer: 2012.II.09.145

Behandeling met hartspier-voorloper cellen voor herstel van de hartspierfunctie in hartfalen door zuurstoftekort van de hartspier

Achtergrond: Hart- en vaatziekten zijn wereldwijd doodsoorzaak nummer één. Na een hartaanval, waarbij het hart zuurstoftekort krijgt, sterven hartspiercellen af wat kan leiden tot verslechtering van de hartfunctie. Een slechte hartfunctie leidt tot hartfalen, wat betekent dat patiënten door hun slechte hart worden beperkt in hun dagelijkse bezigheden. Helaas is er nog geen behandeling beschikbaar die de schade in het hart kan verminderen en daardoor de functie van het hart kan verbeteren. Wetenschappelijk onderzoek laat zien dat toediening van stamcellen de hartfunctie verbetert, echter de resultaten zijn nog niet optimaal. Er wordt gezocht naar verbetering van stamceltherapie. Een van de onderdelen is het zoeken naar het beste type stamcel. In ons laboratorium is een stamcel ontdekt, wat een directe voorloper is van hartspiercellen. De verwachting is dat deze cellen gemakkelijker kunnen uitgroeien tot nieuwe hartspiercellen, of op een andere manier de hartspier kunnen herstellen, dan stamcellen die tot nu werden gebruikt. Om deze stamcellen in patiënten te kunnen testen, zullen ze eerst in grote proefdieren moeten worden getest. Deze studie onderzoekt het effect van hartspier-voorlopercellen in varkens met hartfalen door zuurstoftekort in het hart. Daarnaast wordt er in deze studie onderzocht of MRI het effect van de therapie op het hartspierweefsel goed kan aantonen.

Doel/hypothese: Deze studie heeft als doel om het effect van hartspier voorlopercellen op de hartfunctie te onderzoeken in varkens met hartfalen als gevolg van zuurstoftekort in het hart. Daarnaast wordt een nieuwe MRI methode getest voor het aantonen van dit effect.

Globale aanpak vraagstelling: In varkens wordt de kransslagader tijdelijk afgesloten, wat zorgt voor zuurstoftekort van de hartspiercellen. Hierdoor sterft een deel van de hartspier af en treedt hartfalen op. Vier weken later dienen we aan de hand van loting de stamcellen of een placebo toe. Vier weken hierna bepalen we het effect dat de behandeling heeft gehad op de hartfunctie, onder andere met echo en MRI. Er zijn al veelbelovende resultaten van proeven met muizen. Om behandeling met dit celtype in patiënten te kunnen testen, is het belangrijk om dit eerst in een groot proefdier te testen. Varkens lijken qua grootte en functie van het hart erg op mensen en zijn om die reden het meest geschikt.

Titel studie: Gelatin microspheres as vehicle for growth factors and stem cells delivery in the heart
DEC nummer: 2012.II.09.146

Gelatine-blaasjes om schade aan het hart te herstellen
Achtergrond: Een hart infarct (MI) ontstaat doordat een gedeelte van het hart niet genoeg zuurstof krijgt (meestal door vaatvernauwing ten gevolge van aderverkalking). Dit deel van het hart sterft daardoor af en er wordt een litteken gevormd. Aangezien hartcellen niet meer kunnen delen, kan dit litteken niet uit zichzelf herstellen en gaat de pompkracht van het hart omlaag. Door hartstamcellen of groeifactoren te injecteren, kan een deel van de schade van het hartinfarct gerepareerd worden. Echter, veel stamcellen gaan dood tijdens injectie, waardoor het effect van een injectie nog niet optimaal is.
Doel/hypothese: Hartstamcellen kunnen goed binden aan kleine gelatine-blaasjes. Ook kunnen deze gelatine-blaasjes groeifactoren bevatten die er langzaam uit spoelen. Het doel van dit onderzoek is om deze gelatine-blaasjes te gebruiken voor een betere bezorging en overleving van de cardiale stamcellen.
Globale aanpak vraagstelling: Gelatine-blaasjes worden met cardiale stamcellen en/of groeifactoren geïnjecteerd in het beschadigde deel van het hart. Er wordt gekeken of de gelatine-blaasjes veilig te injecteren zijn en of ze de overleving van de hartstamcellen vergroten. Verder wordt gekeken of ze een gunstig effect hebben op het de pompfunctie van het hart. In kweekmodellen hebben we laten zien dat we deze gelatine-blaasjes kunnen laten binden aan de cellen en de groeifactoren kunnen laten afgeven. Voor verder onderzoek is een muizenmodel nodig om te kunnen inschatten of deze technologie gebruikt kan worden voor hartschade. Hiervoor is geen ander model beschikbaar.

Titel studie: 3D tissue engineering for myocardial repair (long-term follow up)
DEC nummer: 2012.II.09.147

3 Dimensionale weefsel print technologie om schade aan het hart te herstellen
Achtergrond: Een hart infarct (MI) ontstaat doordat een gedeelte van het hart niet genoeg bloed krijgt (meestal door vaatvernauwing ten gevolge van aderverkalking). Dit deel van het hart sterft daardoor af en er wordt een litteken gevormd. Hartspiercellen zijn gespecialiseerde cellen die hun vermogen om zich te vermenigvuldigen voor een groot deel verloren hebben na een infarct. Herstel van het infarct is hierdoor niet mogelijk en het litteken is dus van permanent karakter waardoor de pompkracht van het hart verminderd. Stamcellen zijn cellen die zeer goed kunnen delen en kunnen differentiëren in verschillende soorten gespecialiseerde cellen, zoals de hart cel. Uit onderzoek is gebleken dat door de transplantatie van stamcellen nieuw en gezond hartspierweefsel vormt, maar ook lichaamseigen cellen worden gestimuleerd om bloedvaatjes te vormen.
Doel/hypothese: Het gebruik van stamcellen zou kunnen resulteren in de vorming van hartcellen die het litteken vervangen en zo de hartfunctie verbeteren. Het doel is om door middel van het maken van een weefsel strip de pompfunctie van het hart te verbeteren.
Globale aanpak vraagstelling: Hartcellen worden alleen of samen met vaatwand vormende cellen in een geprinte dragende structuur gebracht en aangebracht op het beschadigde deel van het muizenhart. Er wordt gekeken of deze weefsel strips integreren met het bestaande hartweefsel en ze een gunstig effect hebben op het functioneren van het hart. In kweek modellen hebben we laten zien dat we deze geprinte structuren kunnen maken en nu is een muizenmodel nodig om te kunnen inschatten of deze technologie gebruikt kan worden voor hart schade. Hiervoor is geen ander model beschikbaar.

Vergadering 17 oktober 2012

Titel studie: Monoclonale antibodies against antitrombine
DEC nummer: 2012.II.10.149

Monoclonale antistoffen om de stolling verbeteren
Achtergrond: Patiënten met een erfelijk tekort aan een stollingsfactor kunnen soms levensgevaarlijk bloeden. Meestal worden die patiënten behandeld door de ontbrekende stollingsfactor toe te dienen. Dit is echter kostbaar en soms niet effectief wanneer een patiënt antistoffen maakt tegen die ontbrekende stollingsfactor. In dit project willen antistoffen maken die in zo'n situatie gebruikt kunnen worden om het bloeden van een patiënt tegen te gaan of te voorkomen.
Doel/hypothese: Doel: het maken van antistoffen tegen een natuurlijke stollingsremmer, die de functie van die remmer blokkeren. Hypothese: antistoffen tegen de natuurlijke stollingsremmer kunnen toegepast worden om bloedingen bij patiënten met hemofilie te behandelen.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden geïmmuniseerd met de natuurlijke stollingsremmer, en getest op het maken van antistoffen die de functie van die remmer blokkeren. Indien de muizen de goede antistoffen maken worden ze geofferd en hun milt gebruikt om monoclonale antistoffen mee te maken.

Titel studie: Immunogenicity of spliced epitopes
DEC nummer: 2012.II.10.150

Een nieuw doelwit voor afweerreacties tegen ziekteverwekkers
Achtergrond: Ziekteverwekkers verstoppen zich na binnendringen van het lichaam vaak in cellen. Alleen de zogenaamde CD8 T cellen van het afweersysteem kunnen zulke ziekteverwekker-bevattende cellen elimineren. CD8 T cellen kunnen zien of een cel een ziekteverwekker bevat, omdat de ziekteverwekker door z'n gastheercel in kleine stukjes gehakt wordt. Deze kleine stukjes worden vervolgens op het celoppervlak gepresenteerd. Met name het proteasoom, een cellulair enzym, is verantwoordelijk voor de afbraak van intracellulaire ziekteverwekkers. Tot nog toe werd gedacht dat alleen de kleine fragmenten, die overblijven na afbraak van een ziekteverwekker, aan CD8 T cellen gepresenteerd zouden worden. Onlangs echter is gebleken dat het proteasoom niet alleen knipt maar ook plakt. Dus, naast afbraakproducten kunnen waarschijnlijk ook aan elkaar geplakte fragmenten aan CD8 T cellen gepresenteerd worden.
Doel/hypothese: Doel van dit onderzoek is om na te gaan of herkenning van aan elkaar geplakte fragmenten van een ziekteverwekker belangrijk is voor afweer tegen infecties.
Globale aanpak vraagstelling: Een groep waar we mee samenwerken heeft een aantal door het proteasoom geknipte en een aan elkaar geplakte fragmenten, afgeleid van eiwitten van de intracellulaire bacterie Listeria monocytogenes, geïdentificeerd. Wij willen testen of deze fragmenten inderdaad door CD8 T cellen in Listeria monocytogenes-geïnfecteerde muizen herkend worden en of deze fragmenten een essentiële rol in beschermende afweerreacties spelen. Hiertoe worden muizen met Listeria monocytogenes geïnfecteerd en wordt de CD8 T cel reactie tegen de desbetreffende bacteriele fragmenten geanalyseerd. Vervolgens wordt getest of immunisatie met de desbetreffende "knip-plak" fragmenten een beschermende CD8 T cel reactie opwekt. Aangezien afweer tegen infecties berust op interacties tussen een groot aantal cellen, in verschillende organen, kan deze vraagstelling uitsluitend m.b.v. proefdieren beantwoordt worden.

Titel studie: The involvement of light chains and dendritic cells in the sensibilization process.
DEC nummer: 2012.II.10.151

De rol van dendritische cellen en vrije lichte ketens in een overgevoeligheidsreactie
Achtergrond: In de industriële wereld is er in toenemende mate sprake van een opkomst van overgevoeligheidsreacties. Naar verwachting zullen steeds meer mensen een allergie ontwikkelen. Het ziekteproces van allergieën is grotendeels onbekend. Er is een rol voor het eiwit Immuunglobuline E (IgE). Behalve IgE blijkt uit ons onderzoek dat ook vrije lichte ketens (een fragment van het eiwit immuunglobuline) in staat is een allergische reactie te veroorzaken. Dit mechanisme kan bij een breed scala aan chronische ontstekingsziekten een rol spelen.
Doel/hypothese: Behandeling van allergie gebeurt op dit moment m.n. symptomatisch. Inductie van tolerantie door toedienen van -steeds hogere- doses allergeen is de enige manier om het immuunsysteem opnieuw te programmeren en kan leiden tot verminderde allergische klachten. Vaak is dit een langdurig proces en niet altijd succesvol. Het huidig project kan meer inzicht geven in de rol van vrije lichte ketens in dit proces en zou tot een nieuwe manier van tolerantie-inductie kunnen leiden.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden geïnjecteerd met dendritische cellen, lichte ketens en een combinatie van deze twee. Vervolgens worden ze gevoelig gemaakt voor een stof die een allergische reactie kan veroorzaken (=allergeen) door de huid van de muizen enkele keren bloot te stellen aan het allergeen. De mate van gevoeligheid voor het allergeen wordt getest door het oor in te smeren met het allergeen en de mate van oorzwelling te meten. Door te kijken naar het verschil in oorzwelling wordt bepaald of de ingespoten cellen invloed hebben op de gevoeligheid voor het allergeen.

Titel studie: Koepelaanvraag bloed en melk donorkoeien voor standaard onderzoek binnen de onderzoeksgroep Bovine Immunology
DEC nummer: 2012.II.10.152

Koepelaanvraag bloed en melk donorkoeien voor standaard onderzoek binnen de onderzoeksgroep Bovine Immunology
Achtergrond: Bij het doen van onderzoek naar infectieziekten bij koeien en bij het ontwikkelen van tests om ziektes aan te tonen is als controle of als referentie in veel gevallen bloed of melk nodig van gezonde koeien.
Doel/hypothese: Het doen van wetenschappelijk onderzoek en het ontwikkelen van diagnostische tests.
Globale aanpak vraagstelling: Bij het doen van onderzoek naar infectieziekten bij koeien en bij het ontwikkelen van tests om ziektes aan te tonen is als controle of als referentie in veel gevallen bloed of melk nodig van gezonde koeien. Om de dagelijkse werkzaamheden uit te kunnen voeren zijn hiervoor gezonde donorkoeien nodig.

Titel studie: Mechanisms of a novel immunization method
DEC nummer: 2012.II.10.153

Mechanismes van een nieuwe immunisatie methode
Achtergrond: Antistoftherapie is een belangrijke nieuwe behandelingsmethode van kankerpatiënten. Antistoffen zijn meestal ontwikkeld in de muis door middel van immunisatie. Succesvolle immunisatie van de muizen is dus een cruciaal onderdeel van het genereren van therapeutische antistoffen. Echter, dit is soms een lastig proces. Er zijn moleculen waar het moeilijk is om antistoffen tegen op te wekken. Een voorbeeld hiervan is CD20, een oppervlakte molecuul op kankercellen. CD20 is tevens het meest gebruikte target van klinische antistoffen tegen tumoren van bloedcellen. Meer efficiënte immunisatie methodes zijn dus hard nodig.
Doel/hypothese: Wij hebben recentelijk een muis tumorcellijn gegenereerd die de humane CD20 tot expressie brengt.

Wij hebben gezien, dat wanneer deze cellen in de muis zijn gespoten, zich een sterke immune respons ontwikkelt tegen het humane CD20 molecuul. Dit is heel opvallend, omdat CD20 juist niet immunogeen zou zijn. In deze proeven wij gaan het mechanisme van deze sterke immunisatie uitzoeken.
Globale aanpak vraagstelling: Wij gaan de mechanismes van het immunisatie effect ophelderen door de lymphomacellen (kankercellen) in te spuiten in genetisch gemodificeerde muizenstammen. Uitgroei van de tumorcellen zal worden gevolgd en antistoffen in het bloed zullen worden gemeten. Hierdoor zal een beter inzicht verkregen worden, wat het ontwikkelen van nieuwe, superieure, antistoffen voor klinische toepassing zal bevorderen. Dit onderzoek kan alleen in muizen gebeuren, in een reageerbuis is niet mogelijk. Wel zullen zoveel mogelijk analyses in een reageerbuis worden gedaan.

Titel studie: Intravenous administration of human embryonic mesenchymal stem cell derived conditioned medium and exosomes in CD-1 nude mice with established chronic kidney disease DEC nummer: 2012.II.10.154

Het effect van het toedienen van exosomen en conditioned medium van menselijke mesenchymale cellen op chronische nierziekte bij muizen
Achtergrond: Bij chronisch nierfalen(CKD) verminderd de nierfunctie geleidelijk met als eindpunt transplantatie of dialyse. Onderzoek heeft uitgewezen dat het verwijderen van 5/6 van de nieren bij muizen tot CKD in muizen kan leiden. In dit onderzoek wordt 5/6 van de nieren verwijderd om een muizenmodel van CKD te creëren waarin alle bekende CKD symptomen voorkomen. We hebben getoond (van Koppen et al, PLos One 2012) dat medium uit humane mesenchymale cellen een gunstig effect op de nierfunctie in CKD heeft. Dat kan veroorzaakt worden door de groeifactoren die in de medium zitten of door exosomen. Exosomen zijn blaasjes van 50-100 mm die worden uitgescheiden door gezonde lichaamscellen (in dit geval - humane mesenchymale cellen) en ze kunnen de hartfunctie in verschillende modellen van chronische hartschade verbeteren. Daarom willen we het effect van medium en exosomen in CKD onderzoeken. Op het moment dat de muizen CKD ontwikkelen (5 weken na chirurgie), worden exosomen of medium toegediend om de progressie van CKD te verminderen.
Doel/hypothese: In dit experiment wordt gekeken wat het effect is van het toedienen van exosomen en medium van humane mesenchymale cellen op de nierfunctie.
Globale aanpak vraagstelling: De voorliggende studie beoogt te onderzoeken of dergelijke uit mesenchymale cellen afkomstige exosomen ook in een diermodel met chronische nierinsufficiëntie de nierfunctie gunstig zou kunnen beïnvloeden. Daarnaast zullen wij onderzoeken via welke mechanismen exosomen een gunstig effect hebben en of er mogelijkheden zijn dit gunstige effect te vergroten. Wanneer onze dierstudies in chronische nierinsufficiëntie inderdaad een gunstig effect van exosomen therapie laten zien zullen deze bevindingen snel kunnen worden vertaald naar een klinische toepassing. Wij verwachten dat onze resultaten kunnen bijdragen tot een juist ontwerp van studies met patiënten naar de effectiviteit van stamceltherapie in patiënten met chronische nierinsufficiëntie.

Titel studie: Intravenous administration of human microvascular endothelial cell derived conditioned medium and exosomes in CD-1 nude mice with established chronic kidney disease DEC nummer: 2012.II.10.155

Het effect van het toedienen van exosomen en medium van menselijke endotheliale cellen op chronische nierziekte bij muizen
Achtergrond: Bij chronisch nierfalen(CKD) verminderd de nierfunctie geleidelijk met als eindpunt transplantatie of dialyse. Zonder nierfunctievervanging is leven onmogelijk. Onderzoek heeft uitgewezen dat het verwijderen van 5/6 van de nieren bij muizen tot CKD in muizen kan leiden. In dit onderzoek wordt 5/6 van de nieren verwijderd om een mui-

zenmodel van CKD te creëren waarin alle bekende CKD symptomen voorkomen. Andere onderzoekers en wij hebben getoond dat medium en/of exosomen (blaasjes van 50-100 mm die worden uitgescheiden door cellen) van stamcellen een gunstig effect hebben op chronische hart - en nierschade. Omdat bij chronische nierschade de endothelium van de glomeruli beschadigd is, willen we onderzoeken of exosomen of medium van endotheliale cellen de progressie van CKD kunnen verminderen.
Doel/hypothese: In dit experiment wordt gekeken wat het effect is van het toedienen van exosomen en medium van humane endotheliale cellen op de nierfunctie.
Globale aanpak vraagstelling: De voorliggende studie beoogt te onderzoeken of dergelijke uit endotheliale cellen afkomstige exosomen ook in een diermodel met chronische nierinsufficiëntie de nierfunctie gunstig zou kunnen beïnvloeden. Daarnaast zullen wij onderzoeken via welke mechanismen exosomen een gunstig effect hebben en of er mogelijkheden zijn dit gunstige effect te vergroten. Wanneer onze dierstudies in chronische nierinsufficiëntie inderdaad een gunstig effect van exosomen therapie laten zien zullen deze bevindingen snel kunnen worden vertaald naar een klinische toepassing. Wij verwachten dat onze resultaten kunnen bijdragen tot een juist ontwerp van studies met patiënten naar de effectiviteit van stamceltherapie in patiënten met chronische nierinsufficiëntie.

Titel studie: Ontwikkeling van de ELANA techniek
DEC nummer: 2012.II.10.156

De ontwikkeling van de ELANA techniek
Achtergrond: De ELANA techniek maakt het mogelijk een bypass (omleiding) op een slagader aan te sluiten zonder dat die slagader afgesloten hoeft te worden. Deze eigenschap is essentieel als er een bypass op de slagaders in de hersenen gemaakt dient te worden. De Elana onderzoeksgroep, onder leiding van professor Tulleken, richt zich erop de ELANA bypass techniek minder invasief voor de patiënt te maken en relatief eenvoudiger en sneller voor de neurochirurg. Tevens dienen Nederlandse en buitenlandse neurochirurgen in deze techniek getraind te worden
Doel/hypothese: Het verder ontwikkelen van de non-invasieve bypass techniek en deze te vereenvoudigen, waardoor het slagingspercentage toeneemt.
Globale aanpak vraagstelling: Na uitgebreide testen in vitro is het van uitzonderlijk belang die resultaten in vivo uit te testen, alvorens deze techniek bij patenten toe te passen.

Vergadering 14 november 2012

Titel studie: Mechanism of regulatory B-1a cells
DEC nummer: 2012.II.11.157

Werkingsmechanisme van witte bloedcellen die ontstekingen remmen
Achtergrond: Onder gezonde omstandigheden zorgt het afweersysteem ervoor dat bv. ziekteverwekkers herkend en afgevoerd worden. Het afweersysteem moet dus herkennen of iets gevaarlijk is (bv. een ziekteverwekker) of niet (een lichaamseigen stof). Tegen dit laatste moet de afweer natuurlijk niet actief zijn. Bij patiënten met een auto-immuunziekte is het afweersysteem ontregeld waardoor cellen van het immuunsysteem het eigen lichaam aanvallen. In gezonde mensen gebeurt dit niet. Verschillende witte bloedcellen spelen een belangrijke rol in het voorkomen van auto-immuunziekten. Deze bloedcellen kunnen een foutief beginnende afweerreactie tegen het eigen lichaam stoppen en op deze manier de gezonde balans weer opnieuw herstellen. In dit onderzoek bekijken we de ontstekingsonderdrukkende eigenschappen van een bepaald soort witte bloedcellen en hoe zij hun werk precies doen.
Doel/hypothese: De afgelopen jaren hebben we onderzoek gedaan naar een nieuw soort recentelijk ontdekte ontstekingsonderdrukkende bloedcel. We hebben in dit onderzoek ontdekt dat deze specifieke soort cel in staat is om de eigenschappen van andere soorten witte bloedcellen als het ware aan te passen, maar we weten niet precies hoe dit werkt in het lichaam. Met behulp van dit onderzoek willen we onderzoeken op welke manier de ontstekingsonderdrukkende bloedcel andere cellen kunnen beïnvloeden. We kijken onder andere naar de mogelijkheid dat deze cellen belangrijke signalen ontvangen van darmbacteriën.
Globale aanpak vraagstelling: Om te onderzoeken hoe cellen elkaar kunnen beïnvloeden in het lichaam voeren we diverse onderzoeken uit. Een gedeelte van het onderzoek vindt plaats in het laboratorium waar we verschillende soorten witte bloedcellen in contact brengen met de stoffen die door andere cellen worden uitgescheden. Dit gedeelte van het onderzoek kunnen we doen in een lab situatie. Analyse van cellen in het lab is relatief makkelijk en levert veel informatie op, maar een groot nadeel is dat het niet altijd de werkelijke situatie in het lichaam nabootst. De situatie in het lichaam is erg gecompliceerd vanwege invloeden van nog meer andere cellen. Om deze redenen voeren we ook dierproeven uit waarin we in het lichaam van een muis onderzoeken of witte bloedcellen in contact komen met onder andere componenten uit de darm (zoals stoffen van darmbacteriën). Ook testen we in een muizenmodel of op de juiste manier geactiveerde ontstekingsonderdrukkende bloedcellen mogelijk auto-immuunziekten zoals reuma kunnen verbeteren. Resultaten uit deze proeven leveren belangrijke informatie voor de mogelijke ontwikkeling van een moderne therapie voor auto-immuunziekten in de toekomst.

Titel studie: The efficacy of Safe Shunt Flow Control Technology device to improve vascular accessibility in a porcine arteriovenous fistula model
DEC nummer: 2012.II.11.158

Het verbeteren van de vasculaire toegang ten behoeve van hemodialyse met behulp van Safe Shunt Flow Control Technology
Achtergrond: Wanneer de nieren niet goed meer functioneren is het van levensbelang dat deze functie wordt overgenomen door bijvoorbeeld het gebruik van een extern apparaat (hemodialyse). Hiertoe moet eerst operatief een verbinding gemaakt worden tussen twee bloedvaten. Helaas ontstaan er in deze verbinding frequent vernauwingen die worden veroorzaakt door de veranderde stroomeigenschappen van het bloed. Het voorkomen van deze veranderde stroomeigenschappen is helaas niet mogelijk, maar het verminderen hiervan tussen de behandelingen door is wel mogelijk door

gebruik te maken van een implanteerbaar regelmechanisme (ID-SSCT) die de grootte van het bloedvat en hiermee de stroomeigenschappen kan reguleren.
Doel/hypothese: Het gebruik van de SD-SSCT zal leiden tot een vermindering van vaatvernauwingen.
Globale aanpak vraagstelling: Er zal in het varken aan beide kanten een verbinding gemaakt worden tussen twee in de lies gelegen bloedvaten (eind van de femoraal vene op de zijkant van de femoraalarterie). Aan een van de zijden zal ook een ID-SSCT rondom de vene vat aangebracht worden die, nadat is vastgesteld hoeveel bloed er door de verbinding stroomt (capaciteit), wordt geactiveerd/ingesteld om deze hoeveelheid te reduceren met 50% van de uitgangswaarde. Na 3 weken wordt de capaciteit van het bloedvat gemeten d.m.v. een echo en na 6 weken worden de betreffende bloedvaten in z'n geheel uitgenomen om de vaatvernauwingen te meten en te vergelijken.

Titel studie: Effects of GLP-1 CellBeads on myocardial infarction
DEC nummer: 2012.II.11.159

Cellbeads voor behandeling van een hartinfarct
Achtergrond: Een hartinfarct leidt in veel gevallen tot een duidelijke afname van de hartfunctie door het afsterven van functioneel weefsel. Dit probeert men te voorkomen door mensen met een hartinfarct zo snel mogelijk aan een behandeling te helpen die de doorbloeding van het hart herstelt. Desondanks leidt een hartinfarct bij veel patiënten tot een verminderde kwaliteit van leven door een verminderde hartfunctie.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is de behandeling van een hartinfarct en het voorkomen van een vermindering van de hartfunctie. Hiervoor worden bepaalde cellen toegediend, welke in het lichaam zelf een medicijn kunnen aanmaken dat de negatieve gevolgen van een hartinfarct kan verminderen.
Globale aanpak vraagstelling: Varkens zullen worden behandeld met cellen, die GLP-1, een eiwit dat hartschade kan verminderen, aanmaken na een hartinfarct. Varkens zijn het beste vergelijkbaar met mensen m.b.t. de gevolgen van een hartinfarct. In deze studie wordt gekeken naar de beste dosering van deze cellen, zodat de positieve effecten het meest duidelijk te zien zijn. Dit is een belangrijke stap op de weg naar een klinisch toepasbare behandeling.

Titel studie: Korte en lange termijnseffecten van de biodegradable stent
DEC nummer: 2012.II.11.160

Oplosbare stents voor de behandeling voor vernauwing/ afsluiting van de kransslagader
Achtergrond: Een hartinfarct of klachten van pijn op de borst worden veroorzaakt door een afsluiting of vernauwing van de kransslagader. Om het vat open te houden worden stents geplaatst in de vernauwing. Stents zijn kleine buisjes(lijken een beetje op pennenveertjes van kippengaas) die na plaatsing het bloedvat openhouden zodat het bloed en daarmee zuurstof en voedingsstoffen in het hele hart kunnen komen. Deze stents blijven na plaatsing de rest van het leven achter in de patiënt en dit heeft een aantal nadelen. Een daarvan is dat het vat bijvoorbeeld weer dicht kan gaan zitten in de stent. Op dit moment zijn er nieuwe stents ontwikkeld die na verloop van tijd oplossen in de vaatwand van de patiënt. Hierdoor is de kans op complicaties lager en hoeven patiënten minder medicijnen te slikken om de vaatwand open te houden.
Doel/hypothese: Aantonen dat de oplosbare stents open blijven en net zo goed werken na implantatie als de standaard stent. Ook onderzoeken we wanneer de stent oplost in de vaatwand.
Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek wordt het varken gebruikt als proefdier. Het hart van het varken is vergelijkbaar met dat van een mens. Het onderzoek met deze stents moet gebeuren in een proefdier omdat met computermodellen of in celkweek de omgeving waarin de stent komt en de factoren waaraan de stent blootstaat niet zijn na te bootsen. Opzet van het onderzoek: De stents worden geïmplanteerd en daarna worden op verschillende tijdspunten (gelijk na plaatsen, na 30 dagen, 60, 90 en 180 dagen) de varkens gedood en de stents uitgenomen om te o.a. kijken of er

geen ontstekingsreactie is veroorzaakt en of de stent oplost gedurende de follow up. In ieder dier wordt ook een normale stent geplaatst als controle. Het varken is dan zijn eigen controle waardoor er minder varkens nodig zijn voor dit experiment.

Titel studie: Pilot study to determine Campylobacter challenge dose for bacterial colonization in vaccination experiments
DEC nummer: 2012.II.11.161

Optimalisatie van Campylobacter challenge dosis voor bacteriële kolonisatie in vaccinatie onderzoek
Achtergrond: Jaarlijks lopen in Nederland (en wereldwijd) veel mensen (80.000 in NL) een Campylobacter infectie op, veelal door het eten van besmet pluimveevlees. Hierdoor krijgen mensen diarree en de infectie kan tot complicaties leiden na de diarree fase (gewrichtsaandoeningen, zenuwverschijnselen en het gevoelige darm-syndroom). Pluimvee is in de darm vaak besmet met Campylobacter en tijdens de slacht raakt het vlees besmet. De mens raakt besmet door het eten van dit pluimveevlees. Het is een wereldwijd probleem waarvoor geen goede oplossing voor handen is en vaccinatie zou één van de opties zijn. Dit project richt zich op het voorkomen van besmetting van vleeskuikens door vaccinatie van het kuiken in het ei zodat de kans klein is dat deze op een later moment besmet wordt met Campylobacter.
Doel/hypothese: Dit onderzoek richt zich op het verfijnen van toekomstige experimenten, waardoor in het vervolg minder dieren nodig zijn. Er wordt gekeken naar de optimale concentratie bacteriën (in dit geval Campylobacter) om de dieren te koloniseren, maar niet ziek te maken.
Globale aanpak vraagstelling: Na de uitkomst van de eieren worden de dieren in groepjes verdeeld. Om er zeker van te zijn dat Campylobacter niet aanwezig is voor deze wordt toegediend wordt op een leeftijd van 17 dagen een monster genomen van de ontlasting. Iedere groep krijgt vervolgens een bepaalde concentratie van de Campylobacter bacterie toegediend. Later zal de aanwezigheid en de hoeveelheid Campylobacter bacterie in de blinde darm bepaald worden. De hoeveelheid bacteriën die is toegediend en resulteerde in kolonisatie van 90% van de dieren in de groep zal worden gezien als de optimale concentratie omdat dit het best de situatie buiten het laboratorium nabootst. Door te weten wat de optimale concentratie bacteriën is die moet worden toegediend hoeven in toekomstige experimenten minder dieren te worden gebruikt doordat vooraf bekend is welke hoeveelheid bacteriën de normale situatie het best nabootst. Het is niet mogelijk dit onderzoek te doen zonder dieren omdat het effect van kolonisatie juist in de natuurlijke gastheer bepaald moet worden. Op een andere manier kan de gastheer niet worden nagebootst.

Titel studie: Generation of monoclonal antibodies against the novel anti-inflammatory drug; IL4-10 synerkine
DEC nummer: 2012.II.11.162

Ontwikkeling van antistoffen tegen een nieuw ontstekingsremmend geneesmiddel: IL4-10 synerkine
Achtergrond: De huidige behandeling van patiënten met (chronische) ontstekingen en pijn (bv. bij reuma of artrose patienten) zijn nog steeds een uitdaging. Veel patiënten reageren niet op de bestaande therapie of reageren in de loop van de tijd steeds slechter. Ook al kunnen verschillende aandoeningen ook verschillende oorzaken hebben, ze lijken in sommige aspecten op elkaar. Vaak is er sprake van de aanwezigheid van dezelfde ontstekingsbevorderende stoffen /ontstekingsfactoren. Deze stoffen kunnen schade aan weefsels (bv. bot en kraakbeen) veroorzaken, waardoor ernstige functionele beperkingen optreden. Het effectief remmen van ontstekingsfactoren en daarmee gepaard gaande schade aan weefsels lijkt daarom een goede behandelstrategie. In het UMCU is er een nieuwe technologie ontwikkeld die het mogelijk maakt om verschillende natuurlijke ontstekingsremmende stoffen, zgn. anti-inflammatoire/regulatoire cytokinen, in één geneesmiddel te combineren. Deze nieuwe geneesmiddelen hebben we synerkines genoemd. Regulatoire cytokinen, zoals IL4 en IL10, hebben een enorme potentie om ontstekingen af te remmen. Eerdere klinische studies met regulatoire cytokinen

waren echter beperkt succesvol, vermoedelijk vanwege hun gebrekkige kortdurende beschikbaarheid in het lichaam na toediening en vanwege het feit dat ze niet optimaal werken wanneer ze apart worden toegediend. Dat laatste is in diermodellen voor RA aangetoond, waarbij een combinatie van de cytokines IL4 en IL10 veel beter werkt dan elk van de cytokines apart. Synerkines zijn zo ontworpen dat ze genoemde nadelen niet hebben. Ze hebben de eigenschappen van verschillende anti-inflammatoire cytokinen in één molecuul. Door een groter molecuul gewicht hebben synerkines een langere beschikbaarheid in het lichaam dan afzonderlijke cytokinen. In dit project willen we laten zien dat synerkines superieur zijn als therapie (voor bv. RA en OA) in vergelijking met oorspronkelijke (combinatie) therapieën met ontstekingsremmende cytokinen. Dit zal gebeuren middels onderzoek in het laboratorium en in proefdieren. Wanneer uit dit onderzoek positieve resultaten komen kan dit de mogelijkheid geven om synerkines als een geneesmiddel te ontwikkelen voor klinische toepassing.
Doel/hypothese: Antistoffen tegen IL4-10 synerkine zijn niet commercieel verkrijgbaar omdat het een nieuw ontwikkeld eiwit is. Op het moment worden we daardoor beperkt in het volledig kunnen uitvoeren van bepaalde analyses. Met behulp van antistoffen tegen het IL4-10 synerkines verwachten we de functionele en biochemische eigenschappen van het synerkine in nog meer detail te kunnen beschrijven. Tevens hopen we met dit onderzoek meer inzicht te krijgen in de complexe samenwerkingsmechanismen van cytokinen in (het onderdrukken van) ontstekings gemedieerde ziekten.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen zullen ingespoten worden met het IL4-10 synerkine, volgens een klassieke immunisatiemethode. Hierna zullen de muizen antistoffen tegen IL4-10 gaan aanmaken. Na deze injecties zullen de milten van de geïmmuniseerde muizen gebruikt worden om een aantal cellijnen te ontwikkelen die specifieke antistoffen tegen IL4-10 synerkine kunnen produceren.

Titel studie: Role of leukotriene B4 (LTB4) in cardiac ischemia/reperfusion (I/R) injury
DEC nummer: 2012.II.11.163

LTB4 blokkade als een nieuwe mogelijkheid om de uiteindelijke grootte van een hartinfarct te verkleinen en de pompfunctie van het hart na een infarct te verbeteren
Achtergrond: Leukotriene B4 (LTB4) is erg goed in staat om snel afweercellen naar gebieden waar een zuurstoftekort bestaat te lokken, zoals bij een hartinfarct. Dit gebeurt via het binden van LTB4 aan een receptor (BLT1). Na een hartinfarct (en na het weer openen van het afgesloten vat: dotteren) komen deze afweercellen erg snel naar het gebied met dode en beschadigde cellen. Als dit teveel cellen zijn kan dit negatieve gevolgen hebben voor de grootte van het infarct en de pompfunctie van het hart. Het tegenhouden van deze afweercellen kan zorgen voor kleinere infarcten. Mogelijk kan dit door de BLT1 receptor te blokkeren met een nieuw medicijn.
Doel/hypothese: Muizen die behandeld worden met een medicijn dat de BLT1 receptor blokkeert hebben na 1 dag een kleiner infarct. In deze studie onderzoeken we of behandeling tevens lijdt tot een verbeterde pompfunctie van het hart op langere termijn (4 weken).
Globale aanpak vraagstelling: De muizen zullen een hartinfarct krijgen, waarbij na een half uur het afgesloten bloedvat weer geopend wordt. Daarna krijgt de helft van de muizen wel de behandeling en de andere helft niet. Deze behandeling krijgen ze via de mond toegediend. De muizen zullen een hartfunctieonderzoek ondergaan na 7 dagen en 28 dagen. Er zal tevens worden gekeken naar verschillen in ontstekingsfactoren en ontstekingscellen. Helaas zijn er geen alternatieven voor het gebruik van proefdieren die onze onderzoeksvraag kunnen beantwoorden. Na een hartinfarct ontstaat een complex netwerk van reacties waarbij onder andere ontstekingscellen betrokken zijn. De enige manier om de samenhang van verschillende factoren te onderzoeken is het gebruik van een diermodel.

Titel studie: Onderzoek naar de rol van LAIR-1 in COPD, gebruikmakend van het rook- en LPS-model in de muis
DEC nummer: 2012.II.11.164

Onderzoek naar de rol van LAIR-1 (een remmende ontstekingsreceptor) in de longziekte COPD, gebruikmakend van het rook- en LPS-model in de muis
Achtergrond: De longziekte COPD is een aandoening die wordt gekenmerkt door luchtwegontstekingen en onomkeerbare luchtwegobstructies. Daarbij wordt een sterke toename van ontstekingscellen waargenomen (o.a. neutrofiele granulocyten). Ook worden de wandjes in de longen (alveolaire septa) afgebroken en er komt long collageen vrij. Sigarettenrook is in deze ontwikkeling van COPD de grootste oorzaak. Bepaalde bestanddelen van sigarettenrook (o.a. lipopolysaccharide: LPS) beschadigen het longweefsel en trekken ontstekingscellen aan die de longen verder aantasten. Algemeen wordt aangenomen dat de ontwikkeling van COPD niet alleen veroorzaakt wordt door een rechtstreeks effect van (rook) bestanddelen op cellen, maar eveneens doordat er sprake is van ongeremde ontstekingsresponsen. Hierbij spelen remmende receptoren een rol; zij kunnen de immuun respons van de luchtwegen bedwingen. Wanneer deze receptoren afwezig zijn, ontstaan er dus ongeremde reacties. Leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor-1 (LAIR-1) is een receptor die remmend werkt op de neutrofiele granulocyt (ontstekingscel). LAIR-1 bindt ook collageen, dat overvloedig aanwezig is in de luchtwegen. Er bestaan tot nu toe geen voorgaande experimenten waarbij LAIR-1 geblokkeerd wordt in muizen. Aangezien LAIR-1 in staat is de immuun respons te bedwingen, willen we in deze studie onderzoeken of het blokkeren van LAIR-1 de ernst van COPD-gerelateerde parameters (waaronder luchtwegontstekingen en verhoogd geproduceerde stoffen die bij ontstekingsreacties vrijkomen) zal versterken. Dit kan worden onderzocht door muizen die de LAIR-1 receptor missen bloot te stellen aan rook of te behandelen met LPS en de celinfluxen in de longen alsmede de stoffen die vrijkomen bij ontstekingsreacties te meten en te vergelijken met controle muizen (C57BL/6).
Doel/hypothese: Hypothese: Wanneer de receptor LAIR-1 afwezig is, zal er geen remming van de ontstekingsrespons zijn. Hierdoor zullen de aantallen ontstekingscellen (neutrofiele granulocyten) in de longen toenemen. Doel: Het doel is te onderzoeken of LAIR-1 een rol speelt bij het ontstaan van luchtwegontstekingen door toedoen van sigaretten rook (bevat o.a. LPS) of LPS alleen.
Globale aanpak vraagstelling: Mannelijke en/of vrouwelijke C57Bl/6 muizen (=controle) of LAIR-1 -/- muizen worden 1) gedurende 5 dagen twee maal per dag blootgesteld aan sigarettenrook of standaard lucht of 2) intra nasaal behandeld met LPS oplossing of controle vloeistof (gebufferde zoutoplossing) drie keer per week gedurende 15 dagen (= dag 1, 3, 5, 8, 10, 12 en 15) onder inhalatie-anesthesie. 18 uur na de laatste rookblootstelling of 24 uur na de laatste LPS/PBS behandeling worden de dieren opgeofferd (= dag 6 of dag 16). Gedurende deze studie zal het lichaamsgewicht in beide experimenten op iedere behandeldag worden genoteerd. Na het doden van de muizen worden de longen gespoeld, de aantallen cellen in de longen geteld, de hoeveelheden ontstekingscellen bepaald en vrijgekomen stoffen uit de ontstekingscellen gemeten. Het bloed wordt geïsoleerd om afgegeven stoffen uit ontstekingscellen te meten. Verder worden alle relevante weefsels/organen geïsoleerd. Aangezien ontstekingen en de productie van stoffen uit ontstekingscellen het resultaat zijn van veel processen in het lichaam, waarbij cellen, weefsels en systemen betrokken zijn, kan de ontwikkeling van de longziekte COPD niet anders bestudeerd worden dan in het intacte dier. Er is tot nu toe geen ander model bekend dat het meten in een levend lichaam kan vervangen met behoud van dezelfde kennis die hieruit verkregen kan worden.

Titel studie: Distribution of Cellbeads after intracoronary infusion
DEC nummer: 2012.II.11.165

Verspreiding van CellBeads in het hart
Achtergrond: Een hartinfarct leidt in veel gevallen tot een duidelijke afname van de hartfunctie door het afsterven van functioneel weefsel. Dit probeert men te voorkomen door mensen met een hartinfarct zo snel mogelijk aan een behan-

deling te helpen die de doorbloeding van het hart herstelt. Desondanks leidt een hartinfarct in veel patiënten tot een verminderde kwaliteit van leven door verminderde hartfunctie. CellBeads zijn kleine kraaltjes gevuld met stamcellen. Stamcellen geven factoren af die het hart helpen te herstellen na een hart infarct. CellBeads worden in de kransslagader toegediend na een hartaanval. Wij denken dat CellBeads in het hart vastlopen en niet zullen verspreiden naar andere organen.
Doel/hypothese: In dit deel van het CellBeads onderzoek, wordt onderzocht of alle CellBeads in het hart blijven en of er geen verspreiding is van CellBeads naar andere delen van het lichaam Ook onderzoeken we hoe de Cellbeads zich op de lange termijn gedragen in het hart en hoe het lichaam van de proefdieren op de Cellbeads reageert.
Globale aanpak vraagstelling: De varkens ondergaan een hartinfarct. CellBeads worden gemerkt met een radioactieve stof waarna deze in de kransslagader van het varken worden ingespoten. Na 4 uur gaan de varkens onder narcose naar een speciale scanner die de radioactieve stof kan oppikken. Aan de hand van deze scan kunnen we zien of alle Cell-Beads in het hart zitten. De verspreiding van de CellBeads is niet na te bootsen met een computermodel, omdat er veel factoren bij betrokken zijn. Daarom is het werken met varkens noodzakelijk. Daarnaast kijken we na een aantal weken in het hart van de varkens op welke plaatsen de Cellbeads precies zitten en wat voor immuunreactie er tegen de Cellbeads precies optreedt.

Titel studie: keuzevak immunofarmacologie
DEC nummer: 2012.II.11.166

Immunofarmacologie
Achtergrond/ leerdoel/doelgroep: In het keuzevak Immunofarmacologie laten we studenten van de masterstudies Drug Innovation en Farmaceutische Wetenschappen kennis maken met het onderzoek binnen het vakgebied Immunofarma-cologie. In het blok staat de rol van het afweersysteem in het ziektebeeld van chronische ontstekingsziekten centraal. Dit wordt duidelijk gemaakt d.m.v. overzichtsverhalen, opzoekopdrachten, presentaties over huidig onderzoek en het verkrijgen van praktische ervaring om kenmerken van allergische ontstekingsreacties te bepalen. Deze studenten verte-genwoordigen de toekomstige generatie geneesmiddelonderzoekers. Een van de belangrijke pijlers in dit keuzevak is het geven van een introductie in het preklinisch geneesmiddel onderzoek. We hopen de studenten daarmee te motiveren en te enthousiasmeren voor deze onderzoeksrichting. In de dierexperimenten zullen we een demonstratie geven van belangrijke technieken om luchtwegfunctie te meten en een allergische reactie te bepalen in muizen. Vervolgens zullen weefsels(longwasvloeistof met ontstekingscellen, oortjes, luchtpijp) uit deze muizen geïsoleerd worden om m.b.v. diverse technieken de aantallen en activiteit van ontstekingscellen te kwantificeren.
Opzet van het onderwijselement: In dit keuzevak willen we de studenten op onderzoeksniveau (theoretisch en praktisch) kennis laten maken met de aspecten van preklinisch onderzoek in de immunofarmacologie. Om een zo'n reëel mogelijk beeld te laten krijgen en om zodoende enthousiasme te kweken voor dit soort onderzoek is het daarom noodzakelijk om ze ook in aanraking te laten komen met diermodellen voor chronisch inflammatoire ziekten. De complexe interactie tussen immuuncellen en de gevormde inflammatoire mediatoren kan moeilijk m.b.v. cellijnen nagebootst worden. Voor zover ik heb kunnen nagaan zijn er ook geen alternatieven (computermodellen, video, etc.).

Titel studie: Bepalen van de interactiefactoren van dendritische cellen met T cellen in de darm voor koemelkallergie en de preventie van koemelkallergie met een pre-/ pro-/ synbiotisch dieet DEC nummer: 2012.II.11.167

Opheldering van mechanismen van preventie en behandeling van koemelk allergie (KMA) door onverteerbare suikers (oligosachariden) met of zonder extra gezonde darmeigen bacteriën

Achtergrond: Voedselallergie is een groot wereldwijd probleem, 3-5% van jonge kinderen heeft bv. koemelkallergie (KMA). Aangezien onderzoek bij jonge kinderen (6 maanden oud) niet mogelijk is, is er een model opgezet in muizen aangezien deze allergierespons het meest lijkt op die van de mens. Er is veel belangstelling voor therapieën om voedselallergie te voorkomen of te behandelen. Er zijn sterke aanwijzingen dat nagemaakte suikerstructuren uit de moedermelk (GOS/FOS/AOS) kunnen voorkomen dat allergie zich ontwikkelt. In KMA kunnen deze structuren de klachten voorkomen (preventie) of verminderen (therapie). Dit onderzoek draagt bij aan de kennis over hoe KMA werkt en hoe we KMA kunnen verminderen en misschien zelfs voorkomen.

Doel/hypothese: Kennis opdoen over hoe koemelkallergie zich ontwikkelt (mechanisme) en hoe specifieke suikerstructuren KMA kunnen verminderen. Waardoor we op langere termijn misschien een therapie kunnen ontwikkelen gericht op het voorkomen en behandelen van koemelk allergie middels gebruik van immunomodulerende dieetinterventie met oligosacharide.

Globale aanpak vraagstelling: Complexe pathofysiologische veranderingen liggen ten grondslag aan het ontstaan van voedselallergie wat in vitro niet na te bootsen is. Onderzoek in de mens is onmogelijk omdat het uitnemen van lymfeweefsel, de milt en de darm niet mogelijk is. We willen o.a. met neutraliserende antilichamen en een transfer (geïsoleerde cellen van een allergische muis overspuiten in een andere naïeve muis) de werkingsmechanismen van oligosacharide ontrafelen. Om het aantal dieren zoveel mogelijk te beperken plannen we zoveel mogelijk dieren op 1 dag om het aantal controle groepen te beperken, tevens worden er zoveel mogelijk verschillende parameters in hetzelfde dier gemeten.

Titel studie: De invloed van Vitamines op het mechanisme van het ontstaan van KMA en op het mechanisme van de preventie van KMA door oligosacharide DEC nummer: 2012.II.11.168

Opheldering van mechanismen van voorkomen en van behandeling van koemelk allergie (KMA) door onverteerbare suikers (oligosacharide) met of zonder vitamines in een muismodel

Achtergrond: Voedselallergie wordt een steeds groter wereld wijd probleem. Recentelijk is een koemelkallergie (KMA) model opgezet in muizen. De allergierespons van muizen lijkt op die van de mens. Er is veel belangstelling voor therapieën om voedselallergie te voorkomen of te behandelen. Er zijn sterke aanwijzingen dat suikerstructuren (oligosacharide uit moedermelk) en vitamines tolerantie in KMA kan ondersteunen (preventie) of de klachten kan verminderen (therapie). Dit onderzoek kan een indicatie geven in het belang van voldoende vitamine opname voor een gezonde ontwikkeling van het immuunsysteem ter preventie van KMA

Doel/hypothese: Het ontwikkelen van therapieën gericht op het voorkomen en behandelen van koemelkallergie middels gebruik van immuunsysteem-modulerende dieetinterventie met oligosacharide met/ zonder vitamines voor het onderzoeken van het onderliggende werkingsmechanisme in een muismodel. Zodat het op langere termijn mogelijk is een betere voeding te ontwikkelen voor allergische patiënten.

Globale aanpak vraagstelling: Complexe pathofysiologische veranderingen liggen ten grondslag aan het ontstaan van voedselallergie wat niet in vitro na te bootsen is. Onderzoek in de mens is onmogelijk omdat het uitnemen van lymfeweefsel, de milt en de darm niet mogelijk is. We willen met verschillende hoeveelheiden vitamines in samenwerking

met oligosachariden bepalen of er een optimaal samenwerkingsverband is om koemelk allergie te voorkomen in muizen. Om het aantal dieren zoveel mogelijk te beperken plannen we zoveel mogelijk dieren op 1 dag om het aantal controle groepen te beperken, tevens worden er zoveel mogelijk verschillende parameters in hetzelfde dier gemeten.

Titel studie: The roles of the platelet Toll-like receptor 4 in ischemia/reperfusion injury
DEC nummer: 2012.II.11.169

De rol van Toll-like receptor 4 op bloedplaatjes in de schade aan de hartspier na een hartinfarct
Achtergrond: Een hartinfarct wordt veroorzaakt door een verstopping in een van de kransslagaderen, waardoor een deel van het hart geen bloed meer krijgt. De beste manier om schade te beperken is het heropenen van het bloedvat, meestal middels een dotterprocedure, waardoor de bloedstroom wordt hersteld (i.e. reperfusie). Deze reperfusie veroorzaakt echter secundaire schade, ischemie/reperfusieschade genoemd. Er zijn aanwijzingen dat de bloedplaatjes, aangewakkerd door het aangeboren afweersysteem, hieraan bijdraagt. In deze studie gaan we onderzoeken wat de bijdrage is van bloedplaatjes aan ischemie/reperfusieschade en specifiek wat de rol is van een onderdeel van het aangeboren afweersysteem op bloedplaatjes, Toll-like receptor 4.
Doel/hypothese: We verwachten dat Toll-like receptor 4 op bloedplaatjes betrokken is bij reperfusie schade van het hart.
Globale aanpak vraagstelling: We zullen gebruik maken van muizen waarbij de bloedplaatjes zijn verwijderd. Aan deze muizen zullen bloedplaatjes terug gegeven worden van donormuizen die wel of geen Toll-like receptor 4 op plaatjes hebben. Er zal worden gekeken naar verschillen in hartinfarctgrootte. Deze studie bestudeert de rol van het aangeboren afweersysteem bij het ontstaan van reperfusieschade in het hart. Dit systeem is zo complex, dat dit niet buiten het lichaam na te bootsen is. Hierdoor is de inzet van proefdieren onvermijdelijk.

Titel studie: Anti-tumor activity of IgA in an immunocompetent tumor model
DEC nummer: 2012.II.11.170

Anti-tumor activiteit van IgA antistoffen in a syngeen tumor model
Achtergrond: Antistoftherapie is een nieuwe behandelingsmethode voor kankerpatiënten. Het is van belang meer te weten te komen over het werkingsmechanisme van antistoffen. Antistoffen herkennen hun target met een variabel deel en zetten het immuunsysteem aan met behulp van het constante deel. Op basis van het constant deel kunnen antistoffen ingedeeld worden in verschillende isotypes zoals IgM, IgD, IgG, IgA en IgE. Deze isotypes zetten verschillende immuunfuncties aan. Bijna alle therapeutische antistoffen zijn op dit moment van het IgG isotype. Onderzoek van de laatste jaren heeft aangetoond dat IgA anti-kanker antistoffen nog beter tumorcellen kunnen doden dan IgG.
Doel/hypothese: IgG en IgA antistoffen direct met elkaar vergelijken in een anti-tumor in vivo
model in muizen met een normaal afweersysteem.
Globale aanpak vraagstelling: We gaan IgA en IgG anti-tumor antistoffen direct met elkaar vergelijken in een muis tumormodel.

Titel studie: Mechanism of action of CD38 antibodies in vivo
DEC nummer: 2012.II.11.171

Werkingsmechanismes van CD38 anti-tumor antistoffen
Achtergrond: Antistoftherapie is een nieuwe behandelingsmethode voor kankerpatiënten. Het is van belang meer te weten te komen over het werkingsmechanisme van antistoffen. Antistoffen kunnen op meerdere manieren de tumor doden.

Zo kunnen ze direct de tumorcel doden door het binden aan hun target. Daarnaast kunnen antistoffen immuun cellen of immuun eiwitten activeren die ervoor zorgen dat de tumor gedood wordt. Echter, het is nog niet bekend welke mechanisme het meest belangrijk is in de patiënt.
Doel/hypothese: Beter inzicht krijgen in de werkingmechanismen van anti-tumor CD38 antistoffen tegen multiple myeloma, dat kan leiden tot betere therapie.
Globale aanpak vraagstelling: Wij gaan in een door ons opgezet muis tumormodel mechanismes van CD38 antistoffen bestuderen. Door het gebruiken van verschillende antistoffen en muislijnen die bepaalde receptoren missen kunnen we de rol van deze moleculen aantonen. De mechanismes van antistoftherapie zijn erg complex en kunnen derhalve niet bestudeerd worden in een reageerbuis.

Titel studie: Evaluatie van door transgenese verkregen muizen en nakomelingen t.b.v. het bestuderen van regulatie door antigeen specifieke T-lymfocyten in muis-modellen van chronische inflammaties
DEC nummer: 2012.II.11.172

De rol van regulatoire T cellen in reumatoïde artritis
Achtergrond: Stress of "Heat shock" eiwitten (HSP) spelen een belangrijke rol bij reuma. Wij onderzoeken afweercellen (regulatoire T cellen) die deze eiwitten herkennen. Wanneer deze afweercellen de heat shock eiwitten zien, helpen zij de ziekte onder controle te krijgen in ons experimenteel reuma model.
Doel/hypothese: Wij willen de immuunrespons in de chronische ontstekingsziekten, zoals reuma, colitis en diabetes, beïnvloeden door regulatoire T cellen te leren om dit te onderdrukken. We verwachten dat door het aanmaken van deze regulerende afweercellen in patiënten (in ons geval muizen) de ziekte vermindert.
Globale aanpak vraagstelling: Om de rol van HSP-specifieke T cellen te onderzoeken is het wenselijk gebruik te maken van een transgene muis die T cellen bezit met specificiteit voor HSP. Omdat grote hoeveelheden van deze HSP-specifieke cellen uit deze transgene muis geïsoleerd kunnen worden, betekent dit een reductie van het aantal proefdieren vergeleken met het gebruik van wildtype dieren (deze bezitten van nature slechts enkele HSP-specifieke cellen). Daarnaast kan met het gebruik van deze transgene muis onze onderzoeksvraag specifieker beantwoord worden.

Vergadering 5 december 2012

Titel studie: Validation study of the innovative catheter technology for coronary heart disease and carotid stenosis
DEC nummer: 2012.II.12.173

Validatie van innovatieve optische katheters voor katheterisatie van de coronaire arteriën en carotis stenting
Achtergrond: In de interventionele cardiologie wordt veelvuldig gebruik gemaakt van radioactieve straling om katheterisaties uit te voeren. Dit is nodig om de katheters tijdens het navigeren door de vaten goed te kunnen volgen. Het nadeel van de techniek is (1) dat er alleen 2D afbeeldingen kunnen worden gemaakt, terwijl de vaten en arteriën zich nooit in een vlak bevinden, (2) dat er gebruik gemaakt word van radioactieve straling hetgeen de kans op stralings-geïnduceerde ziekten kan vergroten voor de patiënt (en ook de arts en het operatieteam) en (3) er word gebruik gemaakt van contrast, welke zeer schadelijk is voor de nieren. Er is een nu nieuwe innovatieve katheter technologie in ontwikkeling, welke deze nadelen niet heeft. De katheter kan hierdoor in 3D (of wel in de ruimte) gevolgd worden en worden weergegeven. Door deze nieuwe technologie te combineren met pre-operatieve imaging beelden zoals Magnetic Resonance Imaging (MRI) en Computer Tomografie scan (CT) scans, en te valideren voor het gebruik in en rond het hart, kan het gebruik van radioactieve straling tijdens de behandeling worden verminderd en kan de hoeveelheid benodigde contrast worden verlaagd.
Doel/hypothese: Het doel van deze preklinische studie is validatie van de nieuwe katheter technologie voor nieuwe katheters en guidewires voor het gebruik in en naar de coronaire arteriën en carotis stenting. Hypothese: De innovatieve optische katheter technologie kan de katheterisaties van de coronaire arteriën mogelijk vereenvoudigen ten opzicht van conventionele katheters, met een grote kans op een vermindering van de benodigde straling om de procedure te kunnen uitvoeren.
Globale aanpak vraagstelling: In dit experiment zal er gebruik gemaakt worden van in totaal 16 varkens verdeeld over twee experimenten. In het eerste experiment zal primair de carotis worden gekatheteriseerd. Hierbij wordt gebruikgemaakt van een Computer Tomografie scan (CT) scan. Deze scan kan gefuseerd worden met de locatie van de katheter in 3 Dimensie tijdens de behandeling. Hierdoor is het mogelijk om met de katheters naar de coronaire arteriën te navigeren zonder straling te gebruiken. Het tweede experiment is vergelijkbaar met het eerste experiment. Echter ligt hierbij de focus op het gebruik van een Magnetic Resonance Imaging (MRI) in combinatie met katheterisatie van de carotis. Na afloop van deze tweede behandeling, zal het dier worden euthanaseert door middel van een overdosis. Hierna zal er pathologische onderzoek plaatsvinden om te controleren op afwijkende en beschadigde cellen rondom het katheter gebied. Alle handelingen vinden plaats onder narcose hetgeen gering ongerief voor het dier oplevert. Echter zal het dier twee keer onder narcose moeten worden gebracht omdat beiden behandelingen niet op een dag kunnen worden uitgevoerd. Het dier zal eenmaal moeten ontwaken uit narcose hetgeen een matig ongerief voor het dier zal zijn. Dit ongerief en het kleine aantal proefdieren dat nodig is voor dit onderzoek weegt op tegen de hoeveelheid informatie die wij met dit onderzoek kunnen verkrijgen welke niet op een andere manier meetbaar is?

Titel studie: De rol van recombinant CXCL10 in arteriogenese
DEC nummer: 2012.II.12.174

CXCL10 als stimulator van vaatgroei en weefseldoorbloeding
Achtergrond: Aanmaak en groei van nieuwe vaten kan in het geval van een slagaderafsluiting zorgen voor herstel van de toevoer van zuurstof- en voedingsstoffen in het aangedane weefsel. Eerder onderzoek heeft uitgewezen dat er een belangrijke rol is weggelegd voor het eiwit CXCL10 binnen het proces van nieuwe vaatvorming. In deze studie willen we

onderzoeken of behandeling met CXCL10 het proces van nieuwe vaatgroei kan stimuleren in een muismodel van lokale vaatafsluiting in de achterpoot, wat leidt tot zuurstof- en voedingsstof tekort (ook wel 'ischemie' genoemd). We zullen het eiwit injecteren in de achterpoot spier (lokaal) en onderzoeken of vaatgroei inderdaad gestimuleerd wordt en ischemie kan worden tegengegaan.
Doel/hypothese: Doel is het onderzoeken van de werking van CXCL10 op het herstel van bloedtoevoer in een muismodel voor achterpoot ischemie. De hypothese luidt dat injectie met CXCL10 tot snellere perfusieherstel zal leiden na achterpoot ischemie in de muis.
Globale aanpak vraagstelling: Nieuwe vaatgroei is een ingewikkeld proces waarbij verschillende, veel nog onbekende factoren, betrokken zijn. Deze factoren komen zowel uit het bloed als het omliggende weefsel waarin de vaten groeien. Een intact diermodel is daarom noodzakelijk om het proces zo natuurgetrouw mogelijk te kunnen bestuderen. Eerder binnen dit onderzoek hebben we een nieuw eiwit ontdekt wat sterk betrokken lijkt te zijn bij de vaatgroei in muizen, namelijk CXCL10. Nu willen wij dit eiwit gaan testen als behandeling voor achterpootischemie in hetzelfde muismodel. Binnen deze studie zullen muizen een afgebonden beenslagader krijgen in de rechterachterpoot om vaatafsluiting na te bootsen, waarna het CXCL10 eiwit lokaal wordt ingespoten in de spier van de muis vlak na de operatie. De controle muizen zullen een injectie krijgen met een controle oplossing. Voor en na de operatie wordt door middel van een Laser-Doppler techniek het herstel van de weefseldoorbloeding in de gaten gehouden. Op dag 28 worden de muizen geterminneerd, waarna de spieren, beenmerg en bloed uitgenomen worden voor verdere analyse.

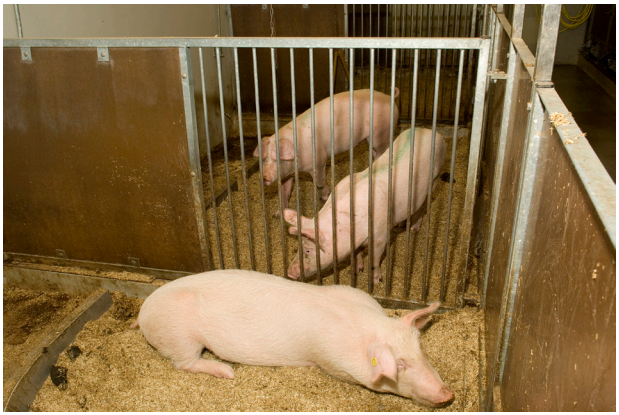
Titel studie: The effect of LY3030348 on myocardial reperfusion injury in a porcine model of acute myocardial ischemia reperfusion injury
DEC nummer: 2012.II.12.175

Een nieuw medicijn voor patiënten met een acuut hartinfarct
Achtergrond: Een hartinfarct leidt in veel gevallen tot een duidelijke afname van de hartfunctie door het afsterven van functioneel weefsel. Dit probeert men te voorkomen door mensen met een hartinfarct zo snel mogelijk aan een behandeling te helpen die de doorbloeding van het hart herstelt. Desondanks leidt een hartinfarct in veel patiënten tot een verminderde kwaliteit van leven door verminderde hartfunctie. Dit komt onder andere doordat er bij het herstellen van de doorbloeding van het hart een acute ontstekingsreactie ontstaat die negatieve invloed op het herstel van het hart heeft.
Doel/hypothese: We verwachten in deze studie dat dit nieuwe middel zorgt voor een beperking van de ontstekingsreactie. Hierdoor zou er minder schade aan het hart ontstaan. Deze daling in hartschade moet uiteindelijk tot een betere hartfunctie leiden in de dieren die een behandeling met dit middel hebben gekregen. Uiteindelijk weten we dat een verbeterde hartfunctie leidt tot een betere kwaliteit van leven, een langere overlevingsduur een reductie in de zorgkosten.
Globale aanpak vraagstelling: Varkens zullen worden behandeld met het medicijn of met een placebo nadat ze zijn onderworpen aan een hartinfarct. Varkens zijn het beste vergelijkbaar met mensen m.b.t. de gevolgen van een hartinfarct. In deze studie wordt gekeken naar de hartfunctie 3 dagen na een hartinfarct. Dit is een belangrijke stap op de weg naar een klinisch toepasbare behandeling.

Titel studie: Invloed van HE op de pathogenese en transmissie van MHV stam DVIM
DEC nummer: 2012.II.12.176

De zoete inval: suikers als virusreceptoren
Achtergrond: Cellen zijn bedekt met een woud aan suikerketens, veelal met siaalzuur als laatste groep. Heel veel verschillende virussen hechten aan hun gastheercel door te binden aan siaalzuur. Wij bestuderen hoe een bepaalde familie van virussen, de coronavirussen, waartoe o.a. het menselijke pathogeen SARS behoort, deze suikers gebruiken om de gastheercel binnen te dringen. We kijken met name naar de rol van het zogenaamde hemagglutinine-esterase, een virus

eiwit dat dynamische binding aan siaalzuur verzorgt. Uitgaande van onze grote kennis van deze eiwitten die we hebben opgedaan met experimenten uitgevoerd in ons laboratorium zijn we nu voor het eerst in staat om ook de rol van HE tijdens een natuurlijk infectie te bestuderen.
Doel/hypothese: Ons doel is te onderzoeken wat de rol is van HE in het ziekteverloop van virussen en het belang van HE tijdens de virus overdracht van de ene gastheer naar de volgende gastheer.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen zullen via de neus worden geïnfecteerd met een Muis Hepatitis Virus (MHV) en met virussen die van dit MHV zijn afgeleid en welke gedefinieerde veranderingen in het HE hebben. Het effect van deze mutaties op het verloop van de infectie zal worden bestudeerd evenals de overdracht van de verschillende virussen naar ongeïnfecteerde dieren. MHV infecteert in de darmen en wordt uitgescheiden via de faeces. Via dagelijkse bemonstering van de faeces en analyse hiervan kunnen we kijken welke virussen het beste van dier op dier worden overgedragen. De efficiëntie van overdracht van de verschillende virussen zal belangrijke informatie opleveren over de rol en functie van HE tijdens de transmissie van coronavirussen. Helaas is onze vraagstelling alleen te beantwoorden middels het gebruik van proefdieren. Er bestaat geen enkele manier om de overdracht van dier op dier na te bootsen. Echter, middels een goed uitgedacht proefopzet beperken we het aantal muizen zoveel mogelijk.





Varkensverblijf.

Titel studie: Effects of CellBeads in an allogenic porcine setting
DEC nummer: 2012.II.12.177

Cellbeads voor behandeling van een hartinfarct
Achtergrond: Een hartinfarct leidt in veel gevallen tot een duidelijke afname van de hartfunctie door het afsterven van functioneel weefsel. Dit probeert men te voorkomen door mensen met een hartinfarct zo snel mogelijk aan een behandeling te helpen die de doorbloeding van het hart herstelt. Juist het herstel van deze doorbloeding leidt tot een acute ontstekingsreactie waardoor het hart maar moeilijk kan herstellen. Mede hierdoor leidt een hartinfarct in veel patiënten tot een verminderde kwaliteit van leven door verminderde hartfunctie.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is de behandeling van een hartinfarct en het voorkomen van een vermindering van de hartfunctie. Hiervoor zijn een speciaal soort cellen ontwikkeld die in het lichaam zelf langdurig een medicijn

kunnen aanmaken dat de negatieve gevolgen van een hartinfarct kan verminderen. In het verleden hebben we hiervoor deze cellen toegediend in varkens die een hartinfarct ondergingen en inderdaad een positief effect op de hartfunctie voor gevonden. Dit waren echter menselijke cellen en we hebben gezien dat er in het hartweefsel van varkens een immuunreactie optreedt op lange termijn die waarschijnlijk ontstaan doordat de humane cellen in het varken worden gespoten. We denken op dit moment dat deze immuunreactie de effectiviteit van de cellen sterk verlaagd. Om te weten hoeveel effect deze therapie daadwerkelijk kan hebben op patiënten, willen we in deze studie testen of varkens cellen tot een verdere verbetering van de hartfunctie kunnen leiden nadat een varken een hartinfarct ondergaan heeft in vergelijking met de eerste geteste menselijke cellen.
Globale aanpak vraagstelling: Varkens zullen worden behandeld met cellen, die een eiwit aanmaken dat hartschade kan verminderen, na een hartinfarct. Varkens zijn het beste vergelijkbaar met mensen m.b.t. de gevolgen van een hartinfarct. In deze studie wordt gekeken naar de beste dosering van deze cellen, zodat de positieve effecten het meest duidelijk te zien zijn. Dit is een belangrijke stap op de weg naar een klinisch toepasbare behandeling.



Titel studie: The influence of invasive surgery on myocardial infarct size in ischemia reperfusion injury
DEC nummer: 2012.II.12.178

Het effect van chirurgie op de grootte van een infarct na een hartaanval
Achtergrond: Een hartinfarct ontstaat wanneer een kransslagader, die het hart van zuurstofrijk bloed voorziet, afgesloten raakt. Dit leidt in veel gevallen tot een duidelijke afname van de hartfunctie door het afsterven van functioneel weefsel. Op lange termijn kan dit zelfs lijden tot extra complicaties zoals hartfalen. De behandeling bestaat op dit moment uit het zo snel mogelijk herstellen van de doorbloeding (perfusie) van het hart om het gedeelte van de spier dat afsterft zo klein mogelijk te houden. Juist het herstellen van de doorbloeding kan gek genoeg ook tot additionele schade leiden (reperfusieschade). Het is inmiddels bekend dat bij deze reperfusieschade het immuunsysteem een belangrijke rol speelt en dat er een acute ontstekingsreactie in het hart ontstaat bij reperfusie waardoor het herstel van het hart na een hartinfarct bemoeilijkt wordt. Op dit moment zijn er nieuwe therapieën in ontwikkeling tegen reperfusieschade die veelvuldig getest worden. Dit wordt doorgaans gedaan door varkens te onderwerpen aan een hartinfarct en vervolgens de therapie te geven. Dit kan op twee manieren, door gebruik te maken van invasieve of niet-invasieve chirurgie (vergelijkbaar met een dotterbehandeling of een openhartoperatie). We weten echter dat bij, m.n. de invasieve chirurgie, het immuunsysteem ook geactiveerd wordt. Omdat we weten dat juist dit immuunsysteem een rol speelt bij reperfusieschade willen we nu graag onderzoeken of de activatie van dit immuunsysteem door chirurgie ook een effect heeft op de uiteindelijke grootte van het hartinfarct. Dit is erg belangrijk omdat we er zeker van willen zijn dat de therapieën die op dit moment getest worden voor een hartinfarct op een manier getest moeten worden die zoveel mogelijk overeenkomt met de menselijke situatie. Anders kunnen er ten onrechte therapieën niet aan mensen worden gegeven omdat ze geen effect lijken te hebben terwijl dit wel het geval is. Of er kunnen juist medicamenten aan patiënten worden gegeven die lang niet zo goed werkzaam zijn als gedacht wordt.
Doel/hypothese: Het doel is om te bepalen of de chirurgische procedure die in sommige gevallen wordt gebruikt om een varken een hartinfarct te geven effect heeft op de grootte van het hartinfarct. We denken dat dit inderdaad het geval is doordat er door de extra ingreep een activatie optreedt van het immuunsysteem. We weten dat juist dit immuunsysteem een rol speelt bij het ontstaan van een hartinfarct.
Globale aanpak vraagstelling: Varkens zullen worden onderworpen aan een hartinfarct door een ballon in de kransslagader in te brengen en deze vervolgens op te blazen. In de ene helft van de varkens zal dit gebeuren in combinatie met invasieve chirurgie, namelijk het openen van het borstbeen. In de andere helft met minimaal invasieve chirurgie, alleen het blootleggen van de bloedvaten in de hals. Vervolgens zal de infarctgrootte vergeleken worden. Dit experiment kan niet zonder proefdieren worden uitgevoerd omdat het ontstaan van een hartinfarct een erg complex proces is dat niet met computermodellen of anderszins kan worden nagebootst.

Titel studie: In vivo competitie tussen E. coli met plasmide en E. coli zonder plasmide
DEC nummer: 2012.II.12.179

In vivo competitie tussen E. coli met plasmide en E. coli zonder plasmide
Achtergrond: Veel bacteriën zijn resistent tegen antibiotica, wat wil zeggen dat infecties niet meer bestreden kunnen worden met antibiotica. Resistentie tegen beta-lactam antibiotica (zoals penicilline) wordt tussen bacteriën overgedragen met stukjes mobiel DNA: plasmiden. E. coli bacteriën met plasmiden met daarop resistentie komen veel voor in vleeskuikens, een mogelijke bron voor humane infecties die niet meer door antibiotica kunnen worden bestreden. Het algemene idee is dat als je geen antibiotica zou geven in vleeskuikens, bacteriën last zouden hebben van de resistentie-plasmiden en dus minder goed groeien dan bacteriën zonder plasmiden. Dat zou ertoe moeten leiden dat resistentie langzaam weer verdwijnt als je geen antibiotica geeft. In ons project willen we onderzoeken op welk punt de bacteriën met plasmiden

in het nadeel zijn. Zit het bijvoorbeeld in de groeisnelheid of kunnen ze met minder voeding toe? Dit hebben we deels al gedaan, door te kijken naar bacteriën met en zonder resistentie-plasmiden in het lab (in vitro). Met computermodellen kunnen we dan voorspellen wat dit betekent voor resistentie in bacteriën in grote groepen kippen op lange termijn. Omdat de stap van bacteriecultuur naar vleeskuikenstal erg groot is, willen we in deze proef een belangrijke conclusie testen die uit de in-vitroproeven en de wiskundige modellen naar voren komt. Dit willen we doen in de natuurlijke leefomgeving van de bacteriën: de kippendarm. De conclusie die we willen testen is dat de bacteriën geen of zeer weinig last hebben van de resistentie-plasmiden. De consequentie van die conclusie is dat we op zoek zullen moeten naar alternatieve bestrijdingsmethoden, om van resistente bacteriën af te komen. Het is dus belangrijk zeker te weten dat we gelijk hebben, vandaar dat we in deze proef willen kijken naar groeiverschillen tussen E.coli met en E.coli zonder plasmiden.
Doel/hypothese: We willen weten of E. coli met resistentie-plasmide, op termijn worden verdrongen door E. coli zonder dit plasmide. Zo ja, dan willen we weten hoe snel dat gaat.
Globale aanpak vraagstelling: We willen acht groepjes van vijf kippen gebruiken in isolatoren zodat er geen besmetting van buiten bij kan komen. Als ze net uit het ei komen, geven we ze een natuurlijke darmflora, met daarbovenop E. colibacteriën met en zonder plasmiden. De groepen verschillen wat betreft de hoeveelheden van de twee typen bacteriën. Twee groepjes krijgen alleen bacteriën met plasmide, twee alleen bacteriën zonder plasmide, om te zien of het plasmide ook spontaan kan verdwijnen. Twee groepjes krijgen 99% met en 1% zonder plasmide, en twee groepjes krijgen 1% met en 99% zonder plasmide, om zowel kleine veranderingen in de één als in de ander goed te kunnen zien. Tenslotte krijgen twee groepjes alleen bacteriën zonder plasmide, als controle op plasmiden in omgevingsbacteriën. We gaan vervolgens van alle dieren gedurende vijf weken tweemaal per week mestmonsters nemen om te kijken hoe de aantallen bacteriën veranderen, en met name de verhouding tussen de twee typen. Zoals uitgelegd bij de achtergrond, is het nodig dit met een dierproef te doen om de conclusies uit de proeven met bacterieculturen in het laboratorium en de wiskundige modellen te bevestigen, omdat de conclusies mogelijk grote gevolgen hebben voor de bestrijding van antibioticumresistentie.

Titel studie: T & B cell interaction during arthritis development
DEC nummer: 2012.II.12.180

Onderzoek naar het type witte bloedcel dat verantwoordelijk is voor het ontstaan van reumatische artritis
Achtergrond: Onder gezonde omstandigheden zorgt het afweersysteem ervoor dat bv. ziekteverwekkers herkend en afgevoerd worden. Het afweersysteem moet dus herkennen of iets gevaarlijk is (bv. een ziekteverwekker) of niet (een lichaamseigen stof). Tegen dit laatste moet de afweer natuurlijk niet actief zijn. Bij patiënten met een auto-immuunziekte is het afweersysteem ontregeld waardoor cellen van het immuunsysteem het eigen lichaam aanvallen. In gezonde mensen gebeurt dit niet. Tijdens het ontstaan van auto-immuunziekten spelen verschillende witte bloedcellen een rol. Deze witte bloedcellen werken op een foutieve manier samen zodat er een auto-immuunziekte kan ontstaan (reumatische artritis is daar een voorbeeld van). Het is niet precies bekend welke witte bloedcel het eerste ‘ontspoort’ en vervolgens verantwoordelijk is voor het ontstaan van de ziekte.
Doel/hypothese: Eerder onderzoek heeft zich vooral gericht op de rol van de “T cel” (een bepaald soort voor witte bloedcel). Wij willen onderzoek doen naar de rol van een andere soort witte bloedcel (de “B cel”). Recente ontwikkelingen maken het mogelijk om te onderzoeken of foutieve activatie van de B cel verantwoordelijk kan zijn voor het ontstaan van artritis.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek vergelijken we de rol van twee soorten witte bloedcellen die we afzonderlijk kunnen activeren door middel van verschillende behandelingen. Nadat de cellen afzonderlijk worden geactiveerd zullen ze echter samenwerken op een erg complexe manier. Deze manier van samenwerken is zo complex dat we dit niet kunnen nabootsen in het laboratorium. Door muizen te gebruiken kunnen we op deze manier wél ontdekken welke witte bloedcel verantwoordelijk is voor het ontstaan van auto-immuunziekten.

Titel studie: Mesenchymal progenitor cells for the treatment of heart failure
DEC nummer: 2012.II.12.181

Stamcellen voor de behandeling van hartfalen
Achtergrond: Hartfalen is een vermindering van de pompfunctie van het hart. Bij een vermindering van de pompfunctie van het hart wordt er minder bloed door het lichaam van de patiënt gepompt wat kan leiden tot symptomen van vermoeidheid, kortademigheid en het niet meer uit kunnen voeren van dagelijkse bezigheden. Hartfalen is vaak het vervolg van een hartaanval. Na een hartaanval blijft er een litteken over. Het deel van het hart waar geen litteken zit moet hierdoor meer zijn best doen om dezelfde hoeveelheid bloed door het lichaam te pompen. Op een gegeven moment kan het hart dit niet bijbenen en zal het hart vergroten en minder krachtig pompen. Hartfalen is niet te genezen maar kan met medicatie deels onder controle gehouden worden. De afgelopen jaren wordt er steeds meer onderzoek gedaan met stamcellen, ook voor hartfalen. Stamcellen zijn kleine fabriekjes die stoffen af kunnen geven aan het hart waardoor er nieuwe bloedvaten ed. gevormd worden. De meeste stamcellen tot nu komen van de patiënt zelf, maar hiervoor is meestal eerst een beenmergpunctie of liposuctie nodig. In dit onderzoek willen we onderzoeken of we donorcellen kunnen geven bij hartfalen.
Doel/hypothese: In dit onderzoek willen we kijken naar de effecten op hartfunctie na injectie van stamcellen in hartfalen bij schapen.
Globale aanpak vraagstelling: De donorcellen die we gebruiken zijn stamcellen van schapen. De schapen ondergaan een hartaanval waarna 4 weken later deze stamcellen in het hart gespoten worden via een speciale katheter. De dieren worden gevolgd d.m.v. echo's om de functie van het hart te bepalen, voor, na en 8 weken na injectie. Hierna wordt het dier geëuthanaseerd en het hart eruit gehaald om te onderzoeken of er minder littekenweefsel is en of er meer bloedvaten zijn ontstaan. Voordat we deze cellen kunnen toepassen in de patiënt moet er natuurlijk eerst onderzocht worden of ze veilig zijn en of ze een verbetering geven van de hartfunctie. In dit onderzoek is gekozen voor schapen omdat de cellen die we gebruiken afkomstig zijn van schapen. Hartfalen is een dynamisch proces en het effect van stamcellen op hartfalen is niet na te bootsen met computers vandaar dat dieren noodzakelijk zijn.

Titel studie: Vergelijking van antigene cartografie m.b.v. kippen en muizen sera
DEC nummer: 2012.II.12.183

Bescherming tegen influenza door middel van vaccinatie met gezuiverde griepeiwitten
Achtergrond: Vaccinatie is één van de meest efficiënte en kosteneffectieve maatregelen ter bescherming tegen een infectie van influenza. Bescherming tegen influenza is voornamelijk gebaseerd op antistoffen opgewekt tegen de oppervlakte eiwitten van het virus. Dit project richt zich op de ontwikkeling van eiwitvaccins gebaseerd op die oppervlakte eiwitten. Deze hebben verschillende voordelen ten opzichte van huidige vaccins die gemaakt zijn van verzwakte/afgedode virussen. De eiwitvaccins kunnen gemakkelijk en goed zuiver gemaakt worden en er zal niet gewerkt hoeven te worden met virussen en de daarvoor bedoelde productiesystemen. Nog een groot voordeel is dat een vaccin relatief snel kan worden aangepast aan nieuwe opkomende influenzavirussen.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om de kwaliteit van de antilichaam response te bepalen als er gevaccineerd wordt met verschillende eiwitvaccins in muizen. Dit zal inzicht geven met welke eiwitvaccin gevaccineerd dient te worden om in zoogdieren een zo breed mogelijke bescherming te generen (bescherming tegen zoveel mogelijk virussen). De resultaten zullen vergeleken worden met de resultaten van een eerdere proef uitgevoerd in kippen.
Globale aanpak vraagstelling: De gebruikte eiwitvaccins zijn gebaseerd op virussen die potentieel

gevaarlijk kunnen zijn voor zoogdieren. Uit de literatuur blijkt dat de antilichaamresponsen in zoogdieren mogelijk anders zijn dan in kippen. Daarom willen we deze eigenschappen ook bepalen in een zoogdiermodel: de muis. De muizen worden gevaccineerd in de pootspier met verschillende eiwitvaccins. Na 3 weken wordt er nogmaals gevaccineerd om een goede antilichaamresponse te verzekeren. Na nogmaals 3 weken wordt er bloed verzameld.

Titel studie: Vaccineren van kippen tegen H5N1
DEC nummer: 2012.II.12.184

Bescherming tegen influenza door middel van vaccinatie met gezuiverde griepeiwitten
Achtergrond: Vaccinatie is één van de meest efficiënte en kosteneffectieve maatregelen ter bescherming van pluimvee tegen een infectie van influenza. Vaccinatie zal niet alleen voorkomen dat verspreiding van de infectie plaatsvindt naar ander pluimvee, maar ook de kans sterk verminderen van potentiële overdracht op de mens. Bescherming tegen influenza is voornamelijk gebaseerd op antistoffen opgewekt tegen de oppervlakeiwitten van het virus. Dit project richt zich op de ontwikkeling van eiwitvaccins gebaseerd op die oppervlakeiwitten. Deze hebben verschillende voordelen ten opzichte van huidige vaccins die gemaakt zijn van verzwakte/afgedode virussen. De eiwitvaccins kunnen gemakkelijk en goed zuiver gemaakt worden en er zal niet gewerkt hoeven te worden met virussen en de daarvoor bedoelde productiesystemen. Nog een groot voordeel is dat een vaccin relatief snel kan worden aangepast aan nieuwe opkomende influenzavirussen.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om de kwantiteit en de kwaliteit van de antilichaam response te bepalen als er gevaccineerd wordt met verschillende eiwitvaccins in kippen.
Globale aanpak vraagstelling: Kippen worden gevaccineerd in de borstspier met verschillende eiwitvaccins. Na 3 weken wordt er bloed afgenomen (vleugelvene) bij alle vogels om inzicht te krijgen in de opgewekte response. Diezelfde dag wordt er nogmaals gevaccineerd om een goede antilichaamresponse te verzekeren, waarna weer na 3 weken bloed verzameld wordt. Aangezien de eiwitvaccins uiteindelijk bestemd zullen zijn voor het doeldier de kip, zullen de experimenten in kippen plaats vinden.

Titel studie: In vivo study of the working mechanism of mechano-chemical ablation (MOCA) with the ClariVein® catheter: Macroscopic and histological evaluation of intra- and perivenous tissue reaction
DEC nummer: 2012.II.12.185

Onderzoek naar werking van mechanochemische ablatie op de ader en weefsels hieromheen
Achtergrond: Spataderen (varices) komen veel voor en leiden tot cosmetische klachten, maar soms ook tot moeilijk behandelbare wonden. Jarenlang was het verwijderen van de spatader de enige behandelingen. Helaas kreeg ongeveer 40% van deze patiënten opnieuw spataderen. De afgelopen jaren zijn nieuwe technieken ontwikkeld die minder ingrijpend zijn. Deze methoden gebruiken hitte om de spataderen te beschadigen en te laten verlittekenen. Door de hitte is er kans op schade van de omliggende weefsels. Postoperatieve pijn, die tot weken kan aanhouden, en zenuwletsel worden regelmatig gezien. Mechano-chemische endoveneuze ablatie (MOCA) is een innovatieve techniek waarbij mechanische beschadiging van de vaatwand wordt gecombineerd met een stof die de vaatwanden aan elkaar “plakt”, waardoor de vene dicht gemaakt wordt. Door afwezigheid van hitte zijn de bovengenoemde complicaties er niet. De eerste studies in de mens (zowel uit de USA, als van onze onderzoeksgroep) tonen goede resultaten. Ongeveer 97% van de behandelde spataders blijven dicht. De patiënten hadden opvallend weinig pijn en ernstige complicaties traden niet op.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het onderzoeken van het exacte werkingsmechanisme van mechanochemische ablatie, door het bestuderen en beschrijven van veranderingen aan aderwand en het weefsel direct om de ader heen.

Globale aanpak vraagstelling: Aanpak: Aanvankelijk zullen we beginnen met een “pilot” studie van 2 dieren waarbij we onder narcose in beide achterpoten de oppervlakkige achterpootader behandelen met MOCA volgens de gangbare methode. De ader en het omliggende weefsel wordt uitgenomen, nadat het dier geëuthanaseerd is. Deze pilotstudie is bedoeld om te tonen dat de procedure uitvoerbaar is en het onderzoekmateriaal goed uitgenomen en verwerkt kan worden. De resultaten van de pilot worden besproken met DEC. Pas nadat de pilotstudie succesvol blijkt, zal verder gegaan worden met meer experimenten. We willen in totaal 18 dieren behandelen (inclusief de dieren uit pilot studie). De helft hiervan zullen we direct na behandeling onderzoeken. Bij de andere helft zal pas na 6 weken het weefsel verzameld worden. Alle verzamelde weefsels worden onderzocht op het laboratorium. Het gebruik van proefdieren in het wetenschappelijk onderzoek naar behandelingen van spataderen is regelmatig gebruikt in de internationale literatuur. We zijn van mening dat proefdieronderzoek het enige goede model is om niet alleen het effect van MOCA op de ader te beschrijven, maar ook de reactie van de ader en het omliggende weefsel hierop.

Andere Vergunninghouders

Biotrading Benelux

Titel studie: Bloedafname bij schapen, runderen en paarden voor het maken van voedingsbodems (bloedplaten)
DEC nummer: 2012.II.03.047

De productie van diagnostica (o.a. voedingsbodems) uit bloed en bloedproducten van dieren
Achtergrond: Bloed en bloedproducten zijn elementaire bestanddelen van standaard diagnostische testen (o.a. microbiologische voedingsbodems) bij de diagnostiek van ziekten bij mens en dier. Deze diagnostische testen worden in medische, farmaceutische, veterinaire en microbiologische laboratoria toegepast. De wetenschappelijke kwaliteit en de relevantie van het onderzoek en productie is gewaarborgd doordat de productie afdeling ISO 9001:2008 is gecertificeerd.
Doel/hypothese: De productie van diagnostische testen uit bloed en bloedproducten afkomstig van schapen, paarden en runderen.
Globale aanpak vraagstelling: Uit bloed afgenomen van schapen, runderen en paarden worden diagnostische testen geproduceerd die voldoen aan de hoogste kwaliteitseisen. Er is geen alternatief voor het bloed afkomstig van genoemde dieren. Bij schapen en runderen wordt 1x en bij paarden maximaal 3x een beperkte hoeveelheid bloed afgenomen.

Genmab

Titel studie: Onderzoek van effecten op het immuunsysteem
DEC nummer: 2012.II.04.063

Onderzoek naar de effecten van antistoffen voor kankerbehandeling op cellen van het immuunsysteem
Achtergrond: Genmab ontwikkelt humane antistoffen die binden aan kankercellen en die deze kunnen uitschakelen door na binding cellen van het afweersysteem van de patiënt te activeren. Voorafgaand aan klinische evaluatie worden de antistoffen in muismodellen geëvalueerd.
Doel/hypothese: In kaart brengen van de verschillen tussen afweercellen en complement van mens en muis wat betreft interactie met humane antistoffen
Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek wordt bloed en afweercellen geïsoleerd uit muizen waarmee in vitro onderzocht wordt met welke effectiviteit ze geactiveerd worden door de verschillende subklassen of mutanten van humane antistoffen. In het laboratorium wordt dit vergeleken met de effectiviteit van antistoffen op bloed en afweercellen geïsoleerd uit mensen. Deze vergelijking is van belang om de geobserveerde anti-kanker effectiviteit in muis tumormodellen (beschreven in andere projecten) zo goed mogelijk te interpreteren en te vertalen naar de effectiviteit van antistoffen in de mens.

Titel studie: Onderzoek van de farmacokinetiek in kleine proefdieren
DEC nummer: 2012.II.08.123

Evaluatie van de verblijftijd in het bloed van antistoffen voor kankertherapie
Achtergrond: Dit project betreft de ontwikkeling van nieuwe monoclonale antistoffen voor gebruik in de immunotherapie van onder meer kanker en reuma. Kennis over de verblijftijd in het lichaam is belangrijk voor de effectiviteit van deze antistoffen in patiënten en geeft inzicht in de dosering die nodig is voor patiënten.
Doel/hypothese: Evaluatie van de verblijftijd van therapeutische antistoffen in het bloed en het mogelijk gunstige of ongunstige effect hierop van modificaties.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek bij muizen wordt bepaald of de betreffende (verbeterde)producten aan de in eerder bepaalde halfwaardetijd van antistoffen voldoen. Aangezien het verdwijnen van antistoffen uit de bloedcirculatie een complex en deels onbekend proces is kan dit alleen in levende dieren onderzocht worden voordat het uiteindelijk in de mens geëvalueerd wordt. De antistoffen worden intraveneus toegediend waarna over een periode van 2 tot 6 weken bloedmonsters genomen worden voor bepaling van de concentratie.

Titel studie: Immunisatie van HuMab muizen (transgeen voor humaan IgG)
DEC nummer: 2012.II.10.148

Ontwikkeling van humane monoclonale antistoffen voor behandeling van ziekten
Achtergrond: Dit project betreft de ontwikkeling van nieuwe monoclonale antistoffen als geneesmiddel voor behandeling van kanker.
Doel/hypothese: Het doel van dit project is het genereren van een breed panel van kandidaat-antistoffen die kunnen binden aan een eiwit dat op kankercellen voorkomt, om na uitgebreide karakterisering de beste kandidaat voor therapeutische toepassing te selecteren.
Globale aanpak vraagstelling: Om de humane antistoffen te genereren worden zgn. transgene muizen gebruikt die humane antistoffen kunnen maken. Deze muizen worden geïmmuniseerd met eiwitten die op kankercellen voorkomen. Van muizen met een antistofrespons worden cellen geïsoleerd voor productie van antistoffen in een celkweeksysteem. Hierna wordt in een uitgebreid pre-klinisch vervolgonderzoek uit het beschikbare panel de antistof geselecteerd met de beste karakteristieken voor therapeutische toepassing bij de mens. Aangezien antistoffen in het algemeen niet toxisch zijn en met name humane monoclonale antistoffen geen allergische reacties teweegbrengen is het ontwikkelingstraject van deze geneesmiddelen relatief kort, zodat een succesvolle antistof al binnen 10 jaar klinisch toepasbaar kan zijn.

Titel studie: Onderzoek van de farmacokinetiek in kleine proefdieren
DEC nummer: 2012.II.12.182

Evaluatie van de verblijftijd in het bloed van antistoffen voor kankertherapie
Achtergrond: Dit project betreft de ontwikkeling van nieuwe therapeutische antistoffen voor gebruik in de immunotherapie van onder meer kanker en reuma. Kennis over de verblijftijd in het lichaam is belangrijk voor de effectiviteit van deze antistoffen in patiënten en geeft inzicht in de dosering die nodig is voor patiënten.
Doel/hypothese: Evaluatie van de verblijftijd van therapeutische antistoffen in het bloed en het mogelijk gunstige of ongunstige effect hierop van modificaties.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek bij muizen wordt bepaald of de betreffende (verbeterde) antistofproducten aan de in eerder bepaalde verblijftijd in het bloed voldoen. Aangezien het verdwijnen van antistoffen uit de bloedcircu-

latie een complex en deels onbekend proces is kan dit alleen in levende dieren onderzocht worden voordat het uiteindelijk in de mens geëvalueerd wordt. De desbetreffende antistoffen worden in de bloedader toegediend waarna over een periode van 2 tot 6 weken bloedmonsters genomen worden voor bepaling van de concentratie.

Curax

Titel studie: De effecten van CU001 in een muizen rookmodel voor COPD
DEC nummer: 2012.II.09.135

De effecten van CU001 in een muizen rookmodel voor COPD
Achtergrond: De longziekte COPD wordt gekarakteriseerd door chronische bronchitis en long emfyseem en wordt vaak veroorzaakt door roken. Daardoor ontstaan luchtwegontstekingen en spelen ontstekingscellen in de longen een grote rol. Deze cellen zijn in staat om stoffen te produceren, die op hun beurt de wanden van de longblaasjes kapotmaken waardoor zich longemfyseem ontwikkelt (de rek is uit de longen). Deze veranderingen in de luchtwegen zullen een verminderde longfunctie tot gevolg hebben. De hiervoor genoemde verschijnselen worden ook gevonden in een muizen rookmodel voor COPD. CU001, een plantenextract, werkt sterk ontstekingsremmend. Deze stof zal in de huidige studie worden onderzocht op mogelijke (dosis-afhankelijke) remmende werking van COPD-verschijnselen zoals die worden gevonden in het muizen model (longontsteking en productie van stoffen die vrijkomen uit ontstekingscellen). De werking van CU001 zal worden vergeleken met een bekende remmer Dexamethason (die als medicijn wel wordt ingezet, maar veelal bijwerkingen vertoont op termijn).
Doel/hypothese: Doel: Onderzoeken of het gebruik van CU001 luchtwegontstekingen en de toegenomen productie aan stoffen die vrijkomen uit ontstekings cellen voorkomt of sterk reduceert.
Hypothese: We verwachten dat CU001 (dosis afhankelijk) de luchtwegontstekingen kan onderdrukken in een kort muizenmodel voor COPD. De vindingen worden vergeleken met een bekend medicijn dat wordt ingezet bij longziekten: Dexamethason.
Globale aanpak vraagstelling: Mannelijke BALB/c muizen worden gedurende 5 dagen twee maal per dag blootgesteld aan sigarettenrook of standaard lucht. Vanaf 3 dagen voor de eerste blootstelling aan rook worden de muizen al dan niet behandeld tot en met dag 5 met dexamethasone, CU001 of oplosmiddel. 18 Uur na de laatste rookblootstelling worden de dieren gedood. De longen van de muizen worden gespoeld, de aantallen cellen in de longen geteld, de hoeveelheden ontstekingscellen bepaald en vrijgekomen stoffen uit de ontstekingscellen gemeten. Het bloed wordt geïsoleerd om afgegeven stoffen uit ontstekingscellen te meten. Verder worden alle relevante weefsels/organen geïsoleerd. Aangezien ontstekingen en de productie van stoffen uit ontstekingscellen het resultaat zijn van veel processen in het lichaam, waarbij cellen, weefsels en systemen betrokken zijn, kan de effectiviteit van CU001 in de longziekte COPD niet anders bestudeerd worden dan in het intacte dier. Er is tot nu toe geen ander model bekent dat het meten in een levend lichaam kan vervangen met behoudt van dezelfde kennis die hieruit verkregen kan worden.

Lekensamenvattingen 2012

Kamer III

Anesthesie, Endocrinologie & Voortplanting,
Epidemiologie, Experimentele oncologie, GDL- bedrijfsvoering,
Heelkunde, Orthopedie, IRAS, Voeding,
Onderwijsaanvragen Diergeneeskunde)

Vergadering 25 januari 2012

Titel studie: MR-HIFU ablation: validation study in the porcine liver
DEC nummer: 2012.III.01.001

Validatie van MR-HIFU ablatie in de varkenslever
Achtergrond: Magnetic resonance-guided high intensity focused ultrasound (MR-HIFU) ablatie is een techniek waarmee zonder te snijden een tumor weggebrand kan worden. Dit is een aantrekkelijk optie voor patiënten met levertumoren, omdat het veel minder belastend is dan een operatie.
Daarnaast is het een behandeling die mogelijk geschikt is voor bepaalde patiënten die niet in aanmerking komen voor een operatie.
Doel/hypothese: In deze studie zal onderzocht worden of de nieuwe MR-HIFU-apparatuur veilig en effectief gebruikt kan worden voor ablatie in de lever. Daarnaast zullen een aantal nieuwe technieken getest worden, zoals correctie voor ademhalingsbewegingen van de lever.
Globale aanpak vraagstelling: Hoewel de effectiviteit van MR-HIFU voor tumorablatie is aangetoond, is dit nieuwe (speciaal voor leverablaties ontworpen) systeem nog niet getest voor ablatie in de lever. Dit is wel noodzakelijk voordat de eerste patiënten hiermee behandeld kunnen worden. De anatomische verhoudingen van het varken komen het meest overeen met die van de mens, daarom is dit het meest geschikte dier voor validatie van dit systeem.

Titel studie: Het effect van supplementatie met prebiotica ten tijde van de zwangerschap op de ontwikkeling van allergie in de nakomelingen
DEC nummer: 2012.III.01.002

Het effect van prebiotica tijdens de zwangerschap op de ontwikkeling van allergie in het kind
Achtergrond: Verschillende onderzoeken hebben aangetoond dat prebiotica (onverteerbare vezels) kunnen bijdragen aan het verbeteren van resistentie tegen bacteriële en virale infecties in pasgeborenen en ook de incidentie van allergie kunnen verminderen. Hierbij wordt vaak gezien dat er veranderingen optreden in de darmflora, en het wordt gesuggereerd dat het positieve effect van prebiotica deels wordt bewerkstelligd door het aantal bifidobacteriën en lactobaccillen ("goede bacteriën") te verhogen. In andere studies is echter ook waargenomen dat prebiotica directe effecten kunnen hebben op het immuunsysteem. Allergieën worden een steeds groter probleem, en tot dusver zijn er geen strategieën ontwikkeld om dit probleem te voorkomen.
Doel/hypothese: In het vorige experiment hebben we gezien dat het toevoegen van prebiotica aan het voer van moederdieren ten tijde van de zwangerschap leidde tot veranderingen in het immuunsysteem van de nakomelingen, en daarom willen ze in dit experiment bevestigen dat prebiotica het ontstaan van allergisch astma in de nakomelingen kan voorkomen. Bovendien willen ze in nader detail onderzoeken hoe deze bescherming tot stand komt.
Globale aanpak vraagstelling: Zwangere muizen worden gevoerd met een controledieet of een dieet waaraan prebiotica zijn toegevoegd. Daarna wordt in de nakomelingen gekeken of ze als gevolg van die toegevoegde prebiotica minder gevoelig zijn voor het ontwikkelen van allergisch astma dan de nakomelingen van muizen die controlevoer hebben gekregen. Omdat het in dit onderzoek gaat om een interactie van verschillende systemen is het gebruik van proefdieren noodzakelijk. Tijdens de zwangerschap vinden er complexe veranderingen plaats in het immuunsysteem van de moeder(muis), wat niet na te bootsen is met bijvoorbeeld cellijnen. Ook het effect van een dieetinterventie in de moeder op het immuunsysteem van de nakomelingen is zo ingewikkeld dat hiervoor nog geen proefdiervrije alternatieven mogelijk zijn.



Paard Jeffrey is happy en gaat deelnemen aan de training.

Titel studie: Effect of exercise on the excretion of digestibility markers in ponies
DEC nummer: 2012.III.01.003

Het effect van arbeid op de uitscheiding van merkstoffen benodigd voor de bepaling van de verteerbaarheid van voedermiddelen/rantsoenen van paardachtigen

Achtergrond: Het huidige energie- en eiwitwaarderingssysteem voor paardenvoeders in Nederland is vooral gebaseerd op gegevens uit literatuur en afgeleide formules van metingen in gecastreerde rammen. Het doel is om een dieren welzijnsvriendelijke techniek te ontwikkelen om de vertering van voedingsmiddelen bij paarden en pony's in rust of arbeid in te kunnen schatten. Met behulp van de verkregen verteringscoëfficiënten kan het huidige energie-en eiwitwaarderingssysteem met paardspecifieke informatie worden geactualiseerd. Door dit systeem te actualiseren kunnen paarden en pony's in Nederland beter naar behoeften worden gevoerd.

Doel/hypothese: Het evalueren en valideren van het gebruik van titaniumdioxide als merkstof bij het bepalen van verteringscoëfficiënten van voedermiddelen in paardachtigen in training. Dit in het kader van de actualisering van het energie- en eiwitwaarderingssysteem voor paardachtigen in Nederland. In deze proef worden gecombineerde suikertesten

geëvalueerd, welke kunnen dienen ter ondersteuning van de ontwikkeling van een diagnostisch hulpmiddel waarbij de gezondheid van zowel de maag als de dunne darm op een eenvoudige en welzijnsvriendelijke manier bij paardachtigen kan worden bepaald. Het uiteindelijke doel is een protocol te ontwikkelen voor het bepalen van de voedingswaarde van voedermiddelen voor paardachtigen. Daarnaast wordt gekeken naar het gebruik van gecombineerde suikertesten om de gezondheid van het maagdarmkanaal van paarden te bepalen.
Globale aanpak vraagstelling: Het onderzoek kan niet zonder dieren worden uitgevoerd daar het de validatie van een methode betreft, die bij paarden en/of pony's zou moeten worden toegepast. Het is dus noodzakelijk om het paard in te zetten als proefdier om zo paardspecifieke resultaten te kunnen verkrijgen. Om te kunnen bepalen of titaandioxide tijdens arbeid als gevolg van verminderde darmpermeabiliteit via urine wordt uitgescheiden is het noodzakelijk om een contrast in arbeid aan te leggen. Hiervoor zullen zes pony's worden onderverdeeld in twee groepen en worden blootgesteld aan twee typen trainingen. Deze trainingen zijn in samenspraak met een expert op gebied van training en overtraining opgesteld en bestaan uit een groep met weinig beweging en een groep die een mate van beweging krijgt die representatief is voor een groot deel van de paardenpopulatie in Nederland. Na iedere trainingsperiode zal gedurende 10 dagen een verteringsonderzoek plaatsvinden. Vervolgens vindt de dag erna de eerste suikertest (lactulose/rhamnose) plaats, welke wordt afgesloten met een gastroscopie.







foto boven: Huisvesting van pony's tijdens experiment.
foto midden: Verzameling van serum voor analyse.
foto onder: Kort overleg tussen studenten en onderzoeker voor aanvang training pony's.

Titel studie: Pilot study investigating the safety of oral potassium administration to adult dairy cows
DEC nummer: 2012.III.01.004

Onderzoek naar de veiligheid van de orale toediening van kalium bij melkkoeien
Achtergrond: Een tekort aan kalium komt bij zieke koeien die niet meer willen eten regelmatig voor. Pas als de koe weer hersteld en gaat eten zal de kaliumspiegel weer normaliseren. Een lage kaliumspiegel zelf kan ook ziekte veroorzaken en daardoor het herstel van de koe negatief beïnvloeden. Om deze reden wordt in de recente literatuur ook een toediening van kalium aanbevolen. Een injectie van kalium is niet veilig en daarom verdient orale toediening de voorkeur. Kalium wordt snel uit de pens opgenomen waardoor alleen een korte ondersteuning gewaarborgd wordt. Deze nieuwe slow release kalium bolus zou hier uitkomst kunnen bieden. Deze studie zal de veiligheid van deze bolus bij koeien onderzoeken.
Doel/hypothese: Met behulp van deze studie zal de veiligheid van een overdosering van 2 tot 3 keer de aanbevolen hoeveelheid worden onderzocht.
Globale aanpak vraagstelling: De orale toediening van een kaliumbolus is een simpele ondersteunende behandeling die door de veehouder zelf uitgevoerd zal worden. Van vergelijkbare producten is bekend dat soms overdosering plaats vind. Om zowel de veiligheid van de behandelde dieren als de consument te garanderen is het belangrijk om mogelijke risico's van overdosering in kaart te brengen. Indien blijkt dat de behandeling veilig ingezet kan worden dan biedt de slow release kalium bolus behandelingsmogelijkheden in de praktijk. De behandeling van zieke koeien kan hiermee ondersteund worden en het herstel bevorderd.

Titel studie: Het lange termijn effect van intraductale chemotherapie
DEC nummer: 2012.III.01.005

Het lange termijn effect van intraductale chemotherapie
Achtergrond: Met dit onderzoek willen we ons richten op het eventuele nadelige effect van intraductale therapie op de normale borstkliercellen. Voordat de stap naar de kliniek gemaakt kan worden, moet uitgesloten worden of het geven van intraductale chemotherapie geen tumoren op de lange termijn induceert.
Doel/hypothese: Borstkanker is de meest voorkomende vorm van kanker bij vrouwen vanaf hun 30^{e} jaar. Een van de belangrijkste risicofactoren is een mutatie in het BRCA1/2 gen. Het cumulatieve risico op het ontwikkelen van borstkanker bij BRCA-draagsters is 28% op de leeftijd van 50 jaar en 84% op de leeftijd van 70 jaar. Deze vrouwen ondergaan regelmatige screening, maar borstkanker wordt hiermee niet altijd ontdekt. Op dit moment is het verwijderen van beide borsten de meest effectieve manier van primaire preventie, maar de risicoreductie is niet volledig. Intraductale therapie zou een alternatief kunnen zijn voor de preventie van borstkanker bij deze vrouwen.
Globale aanpak vraagstelling: Borstkanker is een ziekte met een hoge incidentie, morbiditeit en mortaliteit. Vooral vrouwen met een BRCA mutatie hebben een grote kans op het ontwikkelen van borstkanker. Op dit moment is het uitvoeren van een profylactische mastectomie (borstamputatie) de enige preventieve optie voor deze vrouwen. Deze ingreep geeft echter geen volledige reductie van het risico en heeft grote gevolgen op fysiek en psychosociaal vlak. Het geven van therapie via de tepel zou een alternatief voor deze vrouwen kunnen zijn. Dit is een minder invasieve ingreep, maar moet wel nader onderzocht worden in een diermodel voordat klinische onderzoeken gedaan kunnen worden. Het is belangrijk om het effect op de lange termijn te weten, omdat we niet het risico willen lopen dat een preventieve behandeling mogelijk juist tumoren geeft. Daarom willen we in een diermodel dit lange termijn effect beoordelen door muizen te behandelen en deze de rest van hun leven te volgen op de ontwikkeling van borsttumoren. Omdat dit een cruciale stap van muis naar mens is, wegen de ethische nadelen op tegen de voordelen.

Titel studie: Aanleren subcapsulaire injectie in vivo
DEC nummer: 2012.III.01.007

Aanleren subcapsulaire injectie in vivo
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Om chronische nierschade tegen te gaan willen we medicatie en/of stamcellen onder het nierkapsel spuiten. Deze injectiemethode is reeds geoefend op nieren buiten het lichaam en op dode dieren. Om de injectie goed uit te kunnen voeren moeten we dit eerst op (surplus) ratten uitoefenen.
Globale aanpak onderwijselement: Nadat de ratten onder anesthesie zijn gebracht worden de beide nieren vrij geprepareerd. Vervolgens wordt met microchirurgische pincetten het nierkapsel van de nier opgelicht en wordt de "oefenoplossing" onder het nierkapsel gespoten.

Titel studie: Ontwikkeling van de normale borstklier in de muis
DEC nummer: 2012.III.01.008

Ontwikkeling van de borstklier in de muis
Achtergrond: Bij de ontwikkeling van een orgaan zijn er een soort basiscellen die zorgen voor de productie van meer cellen. Deze geproduceerde cellen veranderen vervolgens in cellen met een specifieke functie. Zo ontstaat er een orgaan, zoals bijvoorbeeld de borst, die verschillende soorten cellen bevat die tezamen zorgen voor het goed functioneren van het desbetreffende orgaan.
Doel/hypothese: Basiscellen leiden tot de formatie van een nieuw orgaan d.m.v. celdeling. Tumoren ontstaan doordat er celdeling plaatsvindt zonder dat dat nodig is. Dit heet 'ongecontroleerde celdeling'. Door dit onderzoek willen wij beter begrijpen hoe basiscellen vorm geven aan een volledig orgaan. Door dit beter te begrijpen hopen wij ook de ontwikkeling van tumoren beter te kunnen begrijpen. Globale aanpak vraagstelling: Door een muismodel te gebruiken waarin cellen op een bepaald moment 1 van 4 kleuren kiezen, kunnen deze cellen vervolgens gevolgd worden in de tijd. Als de cellen delen krijgen hun nakomelingen namelijk dezelfde kleur. Op deze manier kunnen we zien hoe de basiscellen uitgroeien tot een volledig ontwikkelde borstklier.

Titel studie: Karakterisatie van een borstspecifiek conditioneel p53 muismodel
DEC nummer: 2012.III.01.009

Nader onderzoek naar een genetisch gemodificeerd borstkanker muismodel
Achtergrond: De prognose van borstkankerpatiënten is sterk afhankelijk van het type tumor dat zij hebben; goedaardig of kwaadaardig. Er is echter nog weinig bekend over de biologische processen in deze twee typen tumoren.
Doel/hypothese: Analyse van het goedaardige borstkanker muismodel is nodig om in de toekomst te kunnen onderzoeken welke veranderingen leiden tot een kwaadaardige tumor. Eerst moet echter duidelijk vastgesteld worden dat dit muismodel echt goedaardig is en dus niet uitzaait.
Globale aanpak vraagstelling: We zullen analyseren hoeveel borsttumoren gevormd worden, hoe groot ze zijn en hoe snel ze groeien. Bovendien zullen we verifiëren dat ze niet uitzaaien. Uitzaaiingstudies zijn helaas niet te doen zonder het gebruik van proefdieren.

Titel studie: Assessing the role of E2F1, E2F8 and E2F1 after DNA damage in vivo
DEC nummer: 2012.III.01.010

De rol van genen in vivo tijdens DNA schade herstel
Achtergrond: De huid is het grootste orgaan van het lichaam en van groot belang om de homeostase van het lichaam in stand te houden. Het is belangrijk om invloeden van buitenaf tegen te houden. Als de huid niet goed wordt onderhouden, kunnen er grote problemen ontstaan, waaronder tumoren.
Er zijn genen die een belangrijke rol spelen bij de celcyclus, celdood en DNA schadeherstel. Deze genen komen hoog tot expressie in de huid. Muizen zonder deze genen ontwikkelen sneller tumoren en deze worden ook eenvoudiger kwaadaardig dan tumoren in muizen met deze genen. In vitro experimenten laten zien dat cellen met deze genen stoppen met delen na DNA schade, maar cellen zonder deze genen gaan door met delen. Stoppen met delen is van belang om de cellen tijd te geven om de schade te kunnen herstellen of celdood te initiëren om te voorkomen dat de DNA schade permanent wordt, wat tot tumoren kan leiden. De omgeving in het lichaam speelt ook een belangrijke rol in de ontwikkeling van tumoren.
Doel/hypothese: De genen onderdrukken tumorontwikkeling door de regulatie van het DNA herstel na DNA schade.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen met of zonder de specifieke genen worden op de huid behandeld met een DNA schade inducerende stof en ondergaan euthanasie na 8 uur om te kijken naar korte termijn effecten op de cellen in de huid. Proefdieren zijn noodzakelijk omdat de reactie van het immuunsysteem en omliggende cellen van belang kan zijn op de reactie van de huidcellen.

Vergadering 22 februari 2012

Titel studie: Effects of galacto- and fructo- oligosaccharides on the LPS induced inflammatory response in equine PBMCs
DEC nummer: 2012.III.02.011

Het effect van bepaalde suikers uit melk en biest op de ontstekingsreactie in witte bloedcellen van het paard
Achtergrond: De capaciteit van bepaalde suikers (uit bijvoorbeeld melk) om ontstekingsprocessen te remmen is duidelijk aangetoond in de mens en in proefdieren. Bij het paard is hier vooralsnog weinig over bekend, terwijl soortgelijke ontstekingsprocessen erg relevant zijn in de paardenpraktijk.
Doel/hypothese: Het doel is om te bekijken of behandeling met deze suikers een geïnduceerde ontstekingsreactie in witte bloedcellen van het paard vermindert (= ingang voor nieuwe therapie bij ontstekingen in het paard).
Globale aanpak vraagstelling: Omdat er geen cellijnen beschikbaar zijn voor het paard, is er hier gekozen voor isolatie van ontstekingscellen uit bloed van het paard. Dit is een validemethode die relatief weinig ingrijpend is (alleen bloedafname nodig). Met deze cellen kan er een goed beeld verkregen worden van de effecten van de stoffen die onderzocht worden.

Titel studie: Oligosachariden: een nieuw concept in het minimaliseren van mycotoxine (deoxynivaleonol) effecten
DEC nummer: 2012.III.02.012

Oligosachariden (koolhydraten): een nieuw concept in het minimaliseren van mycotoxine (natuurlijke gifstof afkomstig van schimmels) effecten
Achtergrond: Een mycotoxine is een gif (toxine) geproduceerd door draadvormige schimmels. Deoxynivalenol (DON) is de meest voorkomende mycotoxine in granen en graan gerelateerde producten, zoals tarwe, gerst en mais. Onder ongunstige weersomstandigheden (natte zomer) is meer dan 90% van de Europese plantaardige productie gecontamineerd met DON. Blootstelling aan DON via voeding kan leiden tot verlies van eetlust en een chronische ontsteking van de darm. Recent uitgevoerde in vitro experimenten geven aanwijzingen dat oligosachariden (koolhydraten) de schadelijke DON-gerelateerde effecten kunnen verminderen. Onderzoek heeft aangetoond dat melk-oligosachariden niet alleen een belangrijke functie hebben op de compositie en activiteit van de microflora in het maag-darmkanaal, maar oligosachariden worden ook geassocieerd met immuun-modulerende effecten in de darm. Doel van dit onderzoek is dan ook de positieve effecten van melk-oligosachariden verkregen uit in vitro experimenten in een in vivo muismodel te bevestigen.
Doel/hypothese: Het doel van dit experiment is onderzoeken of oligosachariden (koolhydraten) een veelbelovende nieuwe benadering zijn om de negatieve effecten van DON in de darm te minimaliseren.
Globale aanpak vraagstelling: Onze in vitro experimenten geven aanwijzingen dat oligosachariden (koolhydraten) de schadelijke DON-gerelateerde effecten kunnen verminderen. Omdat het intacte darmstelsel met zijn diverse functies niet volledig in vitro kan worden onderzocht, is het noodzakelijk de in vitro gemeten veelbelovende effecten van melk-oligosachariden in vivo te bevestigen.

Titel studie: Optimization of thermally-mediated drug release using MRgHIFU in rabbit VX2 tumour model: a pilot study
DEC nummer: 2012.III.02.013

MRI-gestuurde gefocuseerd ultrageluid voor tumor specifieke afgifte van medicijnen
Achtergrond: Een van de huidige beperkingen van chemotherapie voor de behandeling van kanker zijn de bijwerkingen. De werkzame stof kan in het hele lichaam terecht komen en dat beperkt de dosis die kan worden toegediend om de tumor te vernietigen. Het is ook mogelijk het geneesmiddel in te pakken in temperatuurgevoelige vetbolletjes die stabiel zijn bij lichaamstemperatuur, maar boven de 42°C het geneesmiddel vrijlaten. Door middel high intensity focused ultrasound (HIFU), een veelbelovende techniek waarmee m.b.v. ultrasone geluidsgolven weefsel in het lichaam van buitenaf verwarmd kan worden, wordt de tumor lokaal verwarmd. Zodra de temperatuurgevoelige vetbolletjes de verwarmde tumor bereiken, wordt hier ter plekke het geneesmiddel afgegeven. Op deze manier kan de hoeveelheid werkzame stof in de tumor verhoogd worden, terwijl de hoeveelheid in de rest van het lichaam, en daarmee de bijwerkingen, niet toenemen. Verder is er een sterke invloed van de doorbloeding op de verdeling van het geneesmiddel, dat de tumor via de bloedbaan moet bereiken. MRI wordt gebruikt voor een goede beeldvorming tijdens het verwarmen, om de weefseldoorbloeding te meten, en om het behandelsucces te interpreteren. Voordat HIFU in de klinische praktijk kan worden toegepast voor lokale geneesmiddel afgifte, is er meer onderzoek nodig naar het effect van deze techniek in levend weefsel, onder andere op de doorbloeding, en naar de beste MRI techniek de verwarming naar 42°C te begeleiden. Een geschikt tumormodel is het VX2 tumormodel in konijnen.
Doel/hypothese: Onderzoeken of de milde verwarming veilig en effectief kan worden uitgevoerd, zodanig dat de hoeveelheid geneesmiddel die vrijkomt in de tumor wordt verhoogd, en de tumorgroei wordt geremd. Inzicht verkrijgen over de invloed van verwarming op de weefseldoorbloeding in de tumor.
Globale aanpak vraagstelling: De inzet van proefdieren is noodzakelijk omdat informatie over de effectiviteit en haalbaarheid van deze techniek in de fysiologische situatie (in levend weefsel) alleen te verkrijgen is via een proefdierstudie. In deze studie wordt een VX2 tumor in de achterpoot van een konijn geplaatst. Na toediening van het geneesmiddel wordt de tumor behandeld door verwarming met MRI-gestuurde HIFU. Ten eerste wordt gekeken of de nieuwe methode haalbaar, veilig en effectief is, in het bijzonder of de concentratie geneesmiddel in de tumor plaatselijk verhoogd kan worden. De doorbloeding zal gemeten worden en of deze veranderd onder invloed van lokale verwarming. Tevens zal gekeken worden naar de ontwikkeling van de tumor in de tijd, na lokale afgifte van het geneesmiddel.

Titel studie: Osteochondral repair using decellularized cartilage implants
DEC nummer: 2012.III.02.014

Kraakbeen- en botregeneratie met behulp van kraakbeenafgeleide implantaten
Achtergrond: Een van de oorzaken voor het ontstaan van osteoartrose is het onbehandeld laten van kraakbeenschade. Onderzoek binnen de regeneratieve geneeskunde heeft geleid tot het produceren van implantaten gemaakt van natuurlijk kraakbeenweefsel, welke zowel kraakbeen als botregeneratie lijken te stimuleren. Het natuurlijke kraakbeen dat gebruikt wordt in deze implantaten wordt behandeld met enzymen om de cellen te verwijderen, terwijl andere bioactieve factoren, zoals groeifactoren mogelijk aanwezig blijven. De combinatie van een natuurlijke omgeving voor het regeneratieweefsel en deze bioactieve factoren stimuleren mogelijk de regeneratie. Om dit te evalueren wordt deze pilotstudie uitgevoerd.
Doel/hypothese: Het eerste doel van deze pilotstudie is om de weefselregeneratie van de natuurlijke kraakbeenimplantaten in kraakbeendefecten in de knie van een paard te bestuderen. Het tweede doel is het evalueren van botregeneratie in kleine botdefecten. Het derde doel is het evalueren of kraakbeenimplantaten, gemaakt van het kraakbeen van een ander

dier (koe) ook bij een paard functioneren. En het laatste doel is te evalueren of de implantaten betere weefselregeneratie stimuleren na toediening van MSCs (mesenchymale stamcellen) van een ander paard of naïeve MSCs (induced pluripotent mesenchymale stamcellen, iPS-MSCs) dan wanneer zij zonder cellen worden geïmplanteerd.
Globale aanpak vraagstelling: Deze pilotstudie maakt gebruik van drie paarden. Er zullen twee osteochondrale (kraakbeen + onderliggend bot) defecten (11mm diameter en 10mm diep) gecreëerd worden per paard. Deze worden opgevuld met een kraakbeenimplantaat zonder cellen en een kraakbeenimplantaat waarop cellen (MSCs of iPS cellen) 4 weken zijn voor gekweekt. Daarnaast zullen er 6 botdefecten (11mm diameter en 10mm diep, drie defecten per zijde) in de bekkenkam gemaakt worden om botvormende capaciteit (via de endochondrale route) te evalueren. Per kant wordt 1 botdefect leeggelaten, 1 botdefect opgevuld met een kraakbeenimplantaat zonder cellen en 1 defect opgevuld met een kraakbeenimplantaat met cellen (4 weken voorkweek). Ook worden er 4 koeienkraakbeenimplantaten en 4 paardenkraakbeenimplantaten in de bilspier geplaatst om te kijken naar botvorming en weefselreactie. Er wordt gebruik gemaakt van het paardenmodel i.v.m. de sterke overeenkomsten in kraakbeeneigenschappen van de knie tussen mensen en paarden.

Titel studie: Multispectral optical imaging of tumor specific antibody derived probes in a heterogenous breast cancer model
DEC nummer: 2012.III.02.015

Multispectrale optische beeldvorming van borstkanker met fluorescerende antilichamen
Achtergrond: Borstkanker is de meest voorkomende kanker gerelateerde doodsoorzaak bij vrouwen. Vroegtijdige ontdekking en behandeling vergroot de kans dat de ziekte niet terugkeert. Om kleine tumoren, voorstadia van tumorontwikkeling en uitzaaiing te kunnen detecteren voor of tijdens de operatie, hebben we verschillende stoffen ontwikkeld welke fluorescerend gelabeld zijn. EGFR, HER2, CD44v6 en CAIX zijn tumormarkers die veel voorkomen in borstkanker en niet of nauwelijks in normaal weefsel. Voor elk van deze tumormarkers hebben wij antilichamen ontwikkeld. Hiermee zou het mogelijk moeten zijn om het ziekteproces te monitoren en de behandeling te optimaliseren.
Doel/hypothese: We willen laten zien dat we met een combinatie van antilichamen zowel tumoren als uitzaaiingen kunnen aantonen.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek willen we humane borstkankercellen in de borstklier of in de staartader inspuiten. Binnen enkele weken zullen deze cellen tumoren of uitzaaiingen gaan vormen welke zullen worden aangetoond met een mix van verschillende antistoffen die fluorescerend gelabeld zijn. Omdat het ontstaan en ontwikkelen van borstkanker en uitzaaiingen zeer complex is kan dit niet met andere technieken dan met muismodellen onderzocht worden.

Titel studie: Modulation of the joint environment prior to autologous chondrocyte implantation: a proof of concept study
DEC nummer: 2012.III.02.016

Modulatie van het gewrichtsmilieu voorafgaande aan kraakbeenregeneratie
Achtergrond: Een toenemend aantal jong volwassenen krijgt kraakbeenschade van de knie en heeft daar last van. De uitkomst van behandeling is het best als deze zo vroeg mogelijk wordt toegepast. Wanneer het kraakbeendefect pas laat wordt behandeld zijn de resultaten minder goed, waarschijnlijk omdat het gewrichtsmilieu dan veranderd is en meer

foto rechts: Standaard huisvesting voor schapen en geiten met stalverrijking en bedding.



ontstekingsstoffen bevat.
Doel/hypothese: Met dit onderzoek wordt onderzocht of het verminderen van de ontsteking in de knie voorafgaand aan kraakbeenbehandeling de uitkomsten zal verbeteren.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek zal bij geiten in de knie een kraakbeendefect worden gemaakt wat enige tijd zal bestaan voor het zal worden behandeld. Voorafgaand aan de kraakbeenbehandeling zal de geitenknie worden geïnjecteerd met een ontstekingsremmend medicijn.

Titel studie: Biodistribution and efficacy study of lipoplexes in siRNA and miRNA delivery
DEC nummer: 2012.III.02.017

De afgifte van kleine nucleïnezuren als nieuw geneesmiddel om de bloed toevoer naar tumoren af te snijden
Achtergrond: We hebben korte nucleïnezuren geïdentificeerd die in celkweekexperimenten in staat zijn om bloedvatcelgroei te remmen. Daardoor zouden deze moleculen ook tumorgroei kunnen remmen door de aanvoer van zuurstof en voedingsstoffen naar de tumor te blokkeren. In dit experiment willen we onderzoeken of deze korte nucleïnezuren in staat zijn om de bloedvatcellen in de tumor te bereiken en de groei van de bloedvaten te remmen.
Doel/hypothese: Onze hypothese is dat de geobserveerde remmende werking van korte nucleïnezuren op bloedvatcellen in celkweekexperimenten zich vertaald in eenzelfde effect in de bloedvaten in tumoren in muizen.
Globale aanpak vraagstelling: Om hun werking uit te oefenen moeten de nucleïnezuren de bloedvatcellen in de tumor bereiken. Hiervoor moeten anatomische barrières worden overwonnen en concurrerende celtypen worden omzeild. Dit is niet na te bootsen in celkweekexperimenten.

Titel studie: Karakterisatie van normale humane stamcellen en maligne stamcellen in leukemie en multipel myeloom met therapie ontwikkeling
DEC nummer: 2012.III.02.018

Stamcellen in hemato-oncologische tumoren en ontwikkeling van therapie voor ziekte van Kahler patiënten
Achtergrond: Multipel myeloom en acute leukemie zijn nog steeds levensbedreigende ziekten waar meer 50% van de patiënten aan overlijden. Het ontwikkelen van nieuwe inzichten die ons meer leren over de processen die de groei van de leukemiecellen sturen is van groot belang om nieuwe effectieve therapieën te ontwikkelen. Alleen langs deze weg is het mogelijk om de kans op genezing te vergroten. Nieuwe therapieën zijn van levensbelang.
Doel/hypothese: Stamcellen (SC); zowel normale SC van leukemie als SC van multipel myeloom, ziekte van Kahler, zijn uitermate afhankelijk van de juiste locatie (in het beenmerg) omdat daar de specifieke groeifactoren en interacties met de steuncellen in het beenmerg kunnen plaatsvinden. Doordat wij in staat zijn om in een muis een “gehumaniseerde bot/beenmerg omgeving” te creëren is het dus mogelijk om (1) zowel normale als abnormale stamcellen in hun groei te volgen en de effecten van nieuwe anti tumor medicijnen te volgen. (2) Ook kunnen we onderzoeken wat de verschillen zijn tussen verschillende stadia van deze ziekten, waarop de resistentie voor bepaalde medicijnen is gebaseerd en (3) wat eventuele alternatieve mogelijkheden voor de behandeling van “resistente” patiënten is, in de vorm van nieuwe chemotherapeutica of monoclonale antilichamen.
Globale aanpak vraagstelling: De van patiënten afgenomen leukemie en multipel myeloom cellen blijken nauwelijks of niet in vitro te kweken te zijn hetgeen het bestuderen van specifieke groei-eigenschappen en gevoeligheid voor nieuw te ontwikkelen chemotherapie ernstig bemoeilijkt. Veel onderzoek vind plaats met cellijnen, maar de algemene opinie is

dat deze sterk verschillen met de oorspronkelijk tumorcellen van patiënten. Het speciaal door ons ontwikkelde “gehumaniseerde” muismodel maakt het wél mogelijk om de gewenste studies te doen. Hiertoe wordt er eerst in een muis een humane botomgeving gecreëerd door implantatie van een scaffold die bezaaid is met botvormende humane stamcellen, in de immuundeficiënte muis. Daarin ontwikkelt zich humaan bot met daarop het hematopoietische steunweefsel (stroma, hematopoietische niche). Hierop kunnen vervolgens ingespoten stamcellen (normaal/leukemie/myeloom) zich vestigen en daarna normale of abnormale bloedcellen gaan produceren. Dit biedt ons vervolgens de mogelijkheid om de biologische processen die deze stamcelgroei reguleren, in een “natuurlijke omgeving” te bestuderen en mede daardoor nieuwe vormen/middelen van therapie te ontwikkelen. Door de (tumor) stamcellen te markeren met het luciferase-gen is de groei en overleving (bij therapie) met bioluminescentie te volgen. Gelet op de bijzondere omstandigheid dat een hematopoietische niche niet in vitro te reproduceren is, is het niet mogelijk om zonder het gebruik van proefdieren (in dit geval muizen) deze noodzakelijke experimenten uit te voeren.

Vergadering 28 maart 2012

Titel studie: Biology of Equine Implantation
DEC nummer: 2012.III.03.020

Vroeg embryonale sterfte en implantatie bij het paard
Achtergrond: Vroeg embryonale sterfte (VES) is een belangrijke bron van economisch verlies binnen de paarden fokkerij. Vijftien tot twintig procent van de merries die op 15 -18 dagen na de dekking drachtig bevonden is, brengt het jaar daarop geen levend veulen ter wereld. Bovendien vindt het merendeel van embryonale sterfte (60%) plaats gedurende de eerste 35 dagen van de dracht. Het begin van het 'innestelen' van het embryo (implantatie) is opmerkelijk laat bij de merrie (v/a 40 dagen) in vergelijking met andere diersoorten (3-5 dagen bij de mens). Bij de mens wordt geschat dat 50% van VES zijn oorsprong heeft bij foutieve implantatie, bij het paard is nog weinig bekend over de implantatie.
Doel/hypothese: Identificeren van genen /eiwitten betrokken bij de implantatie van het embryo bij het paard. Op basis hiervan zal vervolgens gekeken worden naar de mechanismes waarop implantatie berust. Daarnaast zal gekeken worden of een laag eiwit dieet tijdens de vroege dracht effect heeft op de expressie van eiwit transporters in de uterus wand.
Globale aanpak vraagstelling: Embryo's (voor implantatie) en uterus slijmvlies (endometrium) biopten wordt gewonnen 7- 65 dagen na de dekking door middel van niet-chirurgische spoeling en biopteren van de uterus. Gen en eiwit expressie in deze weefsels wordt onderzocht. Na het identificeren van significante genen zullen de mechanismes van implantatie nader onderzocht worden met behulp van een in vitro systeem waarin uterus cellen blootgesteld worden aan de target eiwitten. De benodigde cellen zijn afkomstig van levende merries (uterus biopten) of slachthuis materiaal. Merries worden blootgesteld aan een laag-eiwit dieet gedurende dagen 1-21 van de dracht om het effect op voedsel transporters te onderzoeken.

Titel studie: The genetic origin of subfertility in stallions
DEC nummer: 2012.III.03.021

De genetische achtergrond van onvruchtbaarheid bij de hengst
Achtergrond: In Nederland wordt de zaadcel kwaliteit van potentiële dekhengsten onderzocht voorafgaande aan het inzetten voor de fokkerij. Echter, een voldoende "spermarapport" is geen garantie voor voldoende vruchtbaarheid, vooral omdat een regulier onderzoek slechts een gering deel van de eigenschappen, nodig voor een succesvolle bevruchting, omvat. Recentelijk hebben wij met behulp van aanvullende testen voor zaadcel kwaliteit, aangetoond dat twee typen zaadcel afwijkingen geregeld voorkomen bij sub-fertiele hengsten. Onlangs zijn nieuwe genetische methoden ontwikkeld waardoor wij veel meer inzicht kunnen krijgen in de genetisch achtergrond, relevantie en erfelijkheid van deze specifieke afwijkingen.
Doel/hypothese: Opsporen van genen en genetische mutaties betrokken bij gedefinieerde
typen onvruchtbaarheid bij de hengst.
Globale aanpak vraagstelling: Een groep van 5 warmbloed hengsten (en 5 controles) is geïdentificeerd met een afwijking in de activatie van de zaadcellen. Voor beide groepen wordt eenmalig 1) sperma afgenomen voor analyse van gen expressie, 2) 10ml bloed (met EDTA) afgenomen voor chromosoom analyse (karyotypering) en 3) 10 ml bloed (met heparine) afgenomen voor DNA extractie voor het opsporen van genetische mutaties (via comparatieve genome).

Titel studie: Immunotherapie voor voedselallergie: Therapie met gemodificeerd pindaeiwit met alum
DEC nummer: 2012.III.03.022

Immunotherapie voor voedselallergie: Veiligheid en effectiviteit van immunotherapie met een gemodificeerd pinda eiwit extract met of zonder alum
Achtergrond: Voedselallergie treedt vaak op bij kinderen maar ook bij volwassenen. Pinda allergie is ernstig en niet te genezen. Door in vivo onderzoek wordt getracht mogelijkheden en methoden te vinden om risicofactoren te onderscheiden en nieuwe therapieen te ontwikkelen voor pinda allergie.
Doel/hypothese: Het doel van dit project is in een muismodel na te gaan hoe effectief immunotherapie de allergische reactie verminderd en in hoeverre een gemodificeerde extract met of zonder alum vergelijkbaar is of een verbeterde en veiliger therapie geeft vergeleken met een natief extract met of zonder alum. Alum is een immuun versterkend component, dat vaak gebruikt wordt in vaccins en immunotherapiepreparaten in de mens.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek wordt gekeken naar wat een veilige en effectieve dosis is van de ongemodificeerde of gemodificeerd pinda eiwit extract met of zonder alum in subcutane (onder de huid) immunotherapie na sensitisatie in een veelgebruikt muismodel voor pinda allergie.

Titel studie: Karakteriseren van de regulatie mechanismen en functie van Cyp17A1 in vivo
DEC nummer: 2012.III.03.023

Karakterisatie van stoornissen in de lever waarin de galzouthuishouding verstoord is
Achtergrond: 1 op de 200 zwangere vrouwen ontwikkelt een leveraandoening tijdens de zwangerschap, zwangerschapscholestase, welke kan leiden tot vroeggeboorte of sterfte van de foetus. In het ontstaan van deze ziekte spelen genetische factoren en hoge concentraties vrouwelijke hormonen een rol.
Doel/hypothese: In dit onderzoek bestuderen we in muizen hoe vrouwelijke hormonen de galzouthuishouding in de lever verstoren. Vermoed wordt dat deze hormonen de centrale regulator van de galzouthuishouding, FXR, remt en dat dit door opregulatie van bepaalde leverenzymen zwangerschapscholestase veroorzaakt.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie willen we het regulatiemechanisme dat we in cellen hebben vastgesteld bevestigen in de muis, alsmede de functie van deze leverenzymen in de lever en het ontstaan van cholestase onderzoeken.

Titel studie: Rol Slc10a1 in galzoutmetabolisme
DEC nummer: 2012.III.03.024

Rol van NTCP bij galzoutopname door de lever
Achtergrond: Galzouten worden gemaakt in de lever uit cholesterol, opgeslagen in de galblaas en vrijgegeven in de darm tijdens en na een maaltijd. In de darm helpen galzouten bij het absorberen van vetten uit het voedsel. In de laatste deel van de dunne darm worden galzouten weer opgenomen in het bloed. Galzouten in de systemische circulatie hebben een signaalfunctie en spelen een rol in de regulering van energieverbruik van het lichaam. Een hogere hoeveelheid galzouten in het bloed beschermt muizen tegen de nadelige gevolgen van een hoog-vet dieet. Galzouten worden opgenomen uit het bloed door de levercellen (hepatocyten). In vitro is een aantal eiwitten in staat om galzouten een cel in te transporteren, waaronder het natrium-galzout cotransporterend eiwit (NTCP/SLC10A1). Het is momenteel onbekend wat de rol van NTCP is bij het transport van galzouten uit het bloed naar de hepatocyt in vivo en of een verstoorde NTCP functie de galzoutsignalering beïnvloedt.
Doel/hypothese: Het doel van deze dierproef is om de rol van NTCP/Slc10a1 bij het transport van bloed naar de lever op

te helderen. Daartoe worden muizen met een intact NTCP/Slc10a1 gen vergeleken met muizen waarbij een essentieel deel van dit gen is verwijderd. Wij veronderstellen dat muizen zonder NTCP een verminderde capaciteit hebben van de lever om galzouten uit het bloed op te nemen.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek worden muizen met NTCP vergelijken met muizen zonder NTCP in relatie tot de hoeveelheid galzouten in hun bloed en gal. Galzoutmetabolisme is een ingewikkeld samenspel tussen meerdere organen en de situatie in de mens kan niet met celkweek of met materiaal afkomstig van operaties bij mensen of met slachtafval worden nagebootst.

Titel studie: Graft-versus-Tumor (GvT) effecten in gehumaniseerde tumor(micro-)omgeving
DEC nummer: 2012.III.03.025

Ontwikkeling van effectieve en veilige immuuntherapie voor verschillende soorten kanker
Achtergrond: Kanker kan worden behandeld met afweer(=immuun) cellen van een gezonde donor. Dit gaat echter vaak gepaard met levensbedreigende ontstekingsreacties en met ontwikkeling van resistentie tegen therapie. Deze resistentie is met name een gevolg van de nauwe interacties van tumorcellen met de cellen van de micro-omgeving. Afweerremmende immuuncellen spelen ook een belangrijke rol hierin.
Doel/hypothese: Muizencellen zijn niet altijd identiek aan mensencellen. Wij willen de ontwikkeling van efficiënte en veilige immuuntherapie een grote stap dichter naar de behandeling van patiënten in de kliniek brengen, door afweercellen en kankercellen van menselijke oorsprong in de menselijke tumoromgeving te testen.
Globale aanpak vraagstelling: Het functioneren van het menselijk afweersysteem en de groei van kanker zijn zo complex dat de werking van immuuntherapie niet onderzocht kan worden in 'reageerbuizen'. Daarom moeten sommige studies in het lichaam gebeuren. Het lichaam van dieren biedt de noodzakelijke mogelijkheid om therapieen met humane cellen te testen alvorens toepassing in mensen plaats kan vinden.

Titel studie: Pharmacokinetic Comparison between EAZI-BREED CIDR Cattel Insert and PRID in dairy heifers
DEC nummer: 2012.III.03.026

Een studie waarin de mate en wijze van afgifte van het hormoon progesteron wordt vergeleken tussen twee verschillende intravaginale hormoon preparaten (CIDR en PRID-d)
Achtergrond: In de rundveehouderij worden vruchtbaarheidshormonen toegepast o.a. in de vorm van vaginale preparaten. Een vergelijkende studie tussen twee preparaten is gewenst. Dit betreft een studie waarin de mate en wijze van afgifte van het hormoon progesteron wordt vergeleken tussen twee verschillende intravaginale hormoon preparaten (CIDR en PRID-d).
Doel/hypothese: Het doel van de studie is het vergelijken en vaststellen van de plasma progesteron concentraties bij pinken (zonder de aanwezigheid van eierstokken) gedurende 7 dagen na insertie van een intravaginale, progesteron houdende device.
Globale aanpak vraagstelling: In een studie waarbij de gebruikte dieren volgens een vooraf vastgesteld behandelingspatroon worden blootgesteld aan beide vaginale progesteron spiralen gedurende een periode van 7 dagen. Door het regelmatig nemen van bloedmonsters worden de plasma progesteron concentraties (en profielen) gemeten en vergeleken voor twee progesteron preparaten: voor, tijdens en na de aanwezigheid van het preparaat. De dieren die worden ingezet bij dit experiment hebben geen eierstokken meer (zijn in een eerder experiment verwijderd) hetgeen ze uniek maakt voor deze studie: het hormoon progesteron dat wordt gemeten in het bloed kan alleen afkomstig zijn van de te testen preparaten.

Titel studie: Does enterocyte-localized FXR protect against intestinal inflammation in mice?
DEC nummer: 2012.III.03.027

Op zoek naar een alternatief medicijn voor Inflammatoire darmziekten (inflammatory bowel diseases, IBD)
Achtergrond: De huidige medicatie voor IBD patiënten geven veel bijwerkingen, zoals diabetes, infecties en bloedvergiftiging. Dit komt ten dele doordat de medicatie aangrijpt op de immuuncellen en ook andere weefsels in het lichaam. Wij hebben recent aangetoond dat activatie van de galzout sensor, FXR, darmontsteking in muizen kan remmen. In dit vervolg onderzoek willen we onderzoeken of dit komt door de lokale aanwezigheid van FXR in de darmcellen.
Doel/hypothese: Onderzoeken of FXR in de darmcellen verantwoordelijk is voor de remming van darmontstekingen in de muis.
Globale aanpak vraagstelling: In muizen met en zonder FXR in de darm zal darmontsteking worden geïnduceerd. Onderzocht zal worden of de muizen zonder FXR in de darmcellen wel of niet beschermd zijn tegen darmontsteking. Het is niet mogelijk dit op een andere manier te onderzoeken dan in dit muismodel.

Titel studie: The effect of Kisspeptin agonists and antagonists on circulating plasma gonadotropic hormones and gonadal steroids in the dog
DEC nummer: 2012.III.03.028

Het effect van kisspeptin en anti-kisspeptin op circulerende geslachtshormonen bij de hond
Achtergrond: Deze studie is een onderdeel van een project wat als doel heeft een non-chirurgische, permanente wijze van contraceptie en loops-/krolsheid preventie te ontwikkelen. De enige effectieve wijze om honden en katten steriel te maken is chirurgische neutralisatie. Wereldwijd is er een grote behoefte aan een betrouwbaar en veilig alternatief, met name voor ontwikkelingslanden waar overpopulatie van “wilde” honden en katten een groot probleem is. Vanwege dit probleem, worden jaarlijks miljoenen dieren geeuthanaseerd. Er zijn wel castratieprogramma’s, maar deze zijn duur, vergen specifieke ervaring en apparatuur en er is altijd een anesthesie en operatierisico. Deze laatste punten gelden uiteraard ook voor onze huisdieren, die vaak een chirurgische neutralisatie ondergaan. Spermaproductie bij mannelijke dieren en de voortplantingscyclus bij vrouwelijke dieren wordt hormonaal geregeld. Kisspeptin is een eiwit dat zowel bij mannelijke als vrouwelijke dieren (waaronder de mens) deze belangrijke voortplantingshormonen aanstuurt. Mensen en muizen waarbij een aangeboren genetische fout leidt tot het niet functioneren van het kisspeptin systeem, komen niet in de puberteit en zijn steriel, zonder dat zij andere belangrijke gezondheidsproblemen hebben. Dit maakt het kisspeptin systeem een interessante target om een niet-chirurgische methode te ontwikkelen dat zowel mannelijke als vrouwelijke honden en katten steriel maakt, zonder dat zij daar gezondheidsproblemen door krijgen. De onderdelen van deze studie geven ons meer informatie over de functie van kisspeptin o.a. tijdens de verschillende fasen van de voortplantingscyclus van de teef. Een kisspeptin-blocker zal worden toegediend bij zowel teven als reuen om te kijken of de geslachtshormonen in het bloedplasma dalen na toediening van deze kisspeptin-blocker; daarnaast zal bestudeerd worden of deze blokker de stimulatie van de voortplantingshormonen, die optreedt na kisspeptin toediening, kan voorkomen.
Doel/hypothese: Kisspeptin speelt een sleutelrol in de hormonale regulatie van de voortplanting en het blokkeren van dit systeem resulteert in een daling van geslachtshormonen bij zowel reuen als teven.
Globale aanpak vraagstelling: Het is niet mogelijk om de reactie van hormonen op een bepaalde stof (kisspeptin of de kisspeptin-blocker) te meten in een ander systeem dan in het dier zelf.
Het onderzoek bestaat uit 2 delen: het effect van de kisspeptin-blocker op de basale afgifte van de voortplantingshormonen bij de teef en tijdens de stimulatie van kisspeptin; deze studie wordt tijdens verschillende stadia van de cyclus herhaald. Voorts wordt een kisspeptin- blocker toegediend aan 6 gecastreerde reuen. Na castratie zijn de gonadotrofe hormonen, zoals LH en FSH continue erg hoog ten opzichte van niet gecastreerde reuen. Met deze studie zal worden onderzocht of toediening van de kisspeptin-blocker de release van LH en FSH significant kan verminderen.

Titel studie: DDD trial
DEC nummer: 2012.III.03.029

DDD studie (degeneratieve disc distractie studie)
Achtergrond: Chronische lage rugpijn is geassocieerd met degeneratieve afwijkingen van de intervertebrale discus (IVD). Operatieve behandelingen zijn gelimiteerd tot spinale fusie of vervanging van de IVD middels prothese. Dit zijn echter grote ingrepen waar veel nadelen aan kleven. Kadaverstudies en dierstudies bij konijnen laten regeneratie van de IVD zien na tijdelijke distractie van de IVD. Honden laten, net als de mens, spontane discdegeneratie zien. In deze safety studie zullen 5 honden een tijdelijke distractie van 6 weken van de aangedane IVD ondergaan, waarna door middel van force-plate analyse, röntgen en MRI tot 6 maanden na distractie de honden gevolgd zullen worden.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het bepalen van de mate van regeneratie van de IVD na tijdelijke distractie in honden met een middelmatige discus degeneratie (Pfirrmann graad II of III).
Globale aanpak vraagstelling: De hond is geaccepteerd als een model voor natuurlijke degeneratie van de IVD analoog aan degeneratieve aandoeningen van de humane IVD. Hoewel honden met lumbale degeneratieve discus afwijkingen ook zijn behandeld middels spondylodese met behulp van pedikelschroeven en staaffixatie is deze techniek nog niet toegepast voor regeneratie van de IVD.
Dit onderzoek zal worden uitgevoerd op basis van een proof of concept model, met een longitudinale follow-up van 6 maanden met herhaalde metingen. Bij 5 honden uit de praktijk zal door middel van pedikelschroeven en staven een tijdelijke distractie worden gegeven van de aangedane IVD, waarna na 6 weken de materialen weer verwijderd zullen worden. De honden zullen gevolgd worden, waarbij de kwantitatieve uitkomstmaten via force-plate analyse en beeldvormende onderzoeken zullen worden berekend.

Vergadering 25 april 2012

Titel studie: Pinda voedselallergie: verkrijgen van pinda-specifiek IgE
DEC nummer: 2012.III.04.030

Pinda voedselallergie: Verkrijgen van Pinda-specifiek IgE
Achtergrond: Voedselallergie treedt vaak op bij kinderen maar ook bij volwassenen. Middels onderzoek met behulp van weefsel kweek in mens en dier wordt getracht mogelijkheden en methoden te vinden om risicofactoren te onderscheiden en nieuwe therapieën te ontwikkelen.
Doel/hypothese: Voor het bepalen van de hoeveelheden antistoffen tegen pinda's in het serum van muizen is een positief serum nodig als standaard. Doel van deze proef is om een serum te verkrijgen van muizen die overgevoelig zijn gemaakt voor pinda's.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden overgevoelig gemaakt voor pinda's. Hierna wordt bloed van de dieren afgenomen. Het serum van dit bloed kan als standaard gebruikt worden voor het bepalen van antilichamen. Positief serum ontstaat na een immuunreactie in proefdieren en kan niet synthetisch worden gemaakt.

Titel studie: Comparison between different gamma-delta TCRs and comparison between pamidronate and zoledronate
DEC nummer: 2012.III.04.031

Adoptieve transfer van gamma-delta TCR transgene T cellen voor de behandeling van kanker
Achtergrond: "Adoptive transfer" van witte bloedcellen (met name T cellen), die eiwitten op het oppervlak van tumorcellen kunnen herkennen, is een veelbelovende behandeling voor verscheidene kwaadaardige tumoren. Echter, de frequentie van zulke tumor specifieke T cellen is vaak erg laag waardoor het moeilijk wordt om deze cellen te isoleren voor elke patiënt afzonderlijk. Om een snelle productie te faciliteren, kunnen T cellen geprogrammeerd worden met genen, die coderen voor een tumorspecifieke T-cel receptor (TCR), het molecuul dat een T-cel zijn specificiteit geeft (TCR gentherapie). Hoewel de eerste klinische onderzoeken haalbaarheid en potentiële activiteit tegen tumoren van deze benadering lieten zien, werd er slechts in enkele patiënten een klinische respons gezien. Dit maakt verbetering van deze therapie noodzakelijk. De TCR-en die gebruikt zijn voor klinische toepassingen bestaan uit een a- en b-keten. Deze TCR-en hebben als nadeel dat de affiniteit vaak erg laag is (wat betekent dat er veel eiwit op de tumorcel aanwezig moet zijn voordat de T cel de tumorcel herkent), zijn niet voor alle patiënten geschikt doordat zij gerestricteerd zijn aan 1 bepaalde HLA, en kunnen paren met de al aanwezig TCR a- en b-keten waardoor TCR-en op het oppervlak kunnen ontstaan waarvan wij niet weten welk eiwit zij herkennen en die vervolgens auto-immuniteit kunnen veroorzaken. Dit alles kan voorkomen worden door gebruik te maken van een gammadelta TCR. In eerdere experimenten hebben wij al gezien dat de gamma-delta TCR in staat is om tumor groei in vivo te remmen.
Doel/hypothese: Het aantonen van de therapeutische werking en veiligheid van T cellen, geherprogrammeerd met een gamma-delta TCR. De verwachting is, dat deze cellen anti-tumor activiteit laten zien, terwijl ze normaal weefsel van de muis beschermen.
Globale aanpak vraagstelling: In een preklinisch model zullen humane T cellen, geherprogrammeerd met een gamma-delta TCR, ingespoten worden in tumor dragende muizen. Eerdere muis experimenten zijn gedaan met T cellen waarin de gamma-delta TCR met behulp van twee retrovirale vectoren was ingebracht. Voor klinische toepassing is het de bedoeling dat de TCR maar door middel van 1 retrovirale vector wordt ingebracht in de T cellen. Onderzoekers hebben deze vectoren gemaakt en willen deze testen in het muis model om te zien of tumor groei nog steeds geremd wordt. Tevens zijn er

de afgelopen maanden meerdere gamma-delta TCR-en geïsoleerd die wij graag naast de eerder gebruikt TCR van G115 willen testen. Tenslotte willen wij een vergelijking maken tussen pamidronate en zoledronate waarvan bekend is dat die allebei ervoor zorgen dat tumorcellen meer vatbaar zijn voor herkenning door gamma-delta T cellen.

Titel studie: T cell receptor gene therapy of cancer
DEC nummer: 2012.III.04.032

Adoptieve transfer van gamma-delta TCR transgene T cellen voor de behandeling van kanker
Achtergrond: "Adoptive transfer" van witte bloedcellen (met name T cellen), die eiwitten op het oppervlak van tumorcellen kunnen herkennen, is een veelbelovende behandeling voor verscheidene kwaadaardige tumoren. Echter, de frequentie van zulke tumor specifieke T cellen is vaak erg laag waardoor het moeilijk wordt om deze cellen te isoleren voor elke patiënt afzonderlijk. Om een snelle productie te faciliteren, kunnen T cellen geprogrammeerd worden met genen, die coderen voor een tumorspecifieke T-cel receptor (TCR), het molecuul dat een T-cel zijn specificiteit geeft (TCR gentherapie). Hoewel de eerste klinische onderzoeken haalbaarheid en potentiële activiteit tegen tumoren van deze benadering lieten zien, werd er slechts in enkele patiënten een klinische respons gezien. Dit maakt verbetering van deze therapie noodzakelijk. De TCR-en die gebruikt zijn voor klinische toepassingen bestaan uit een a- en b-keten. Deze TCR-en hebben als nadeel dat de affiniteit vaak erg laag is (wat betekent dat er veel eiwit op de tumor cel aanwezig moet zijn voordat de T cel de tumorcel herkent), zijn niet voor alle patiënten geschikt doordat zij gerestricteerd zijn aan 1 bepaalde HLA, en kunnen paren met de al aanwezig TCR a- en b-keten waardoor TCR-en op het oppervlak kunnen ontstaan waarvan wij niet weten welk eiwit zij herkennen en die vervolgens auto-immuniteit kunnen veroorzaken. Dit alles kan voorkomen worden door gebruik te maken van een gammadelta TCR. In eerdere experimenten hebben wij al gezien dat de gamma-delta TCR in staat is om tumor groei in vivo te remmen. Echter werden de T cellen altijd tegelijkertijd met de tumorcellen ingespoten. Nu willen wij onderzoeken of wij nog steeds remming zien van tumor groei als wij een aantal dagen na injecteren van tumorcellen de T cellen injecteren. Dit zou meer in overeenstemming komen met wat er ook bij de mens van toepassing is.
Doel/hypothese: Het aantonen van de therapeutische werking en veiligheid van T cellen geherprogrammeerd met een gamma-delta TCR. De verwachting is, dat deze cellen anti-tumor activiteit laten zien, terwijl ze normaal weefsel van de muis beschermen.
Globale aanpak vraagstelling: In een preklinisch model zullen humane T cellen, geherprogrameerd met een gamma-delta TCR ingespoten worden in tumor dragende muizen. Uit eerdere experimenten is gebleken dat de gamma-delta TCR getransduceerde T cellen in staat zijn om tumor groei te remmen. In deze experimenten willen wij onderzoeken of er ook remming is van tumor groei op het moment dat de gamma-delta TCR transgene T cellen op een later tijdstip worden ingespoten.

Titel studie: Evaluation of the chronic integrity of the tongue advancement device components in pigs
DEC nummer: 2012.III.04.033

Testen van een tong suspensie systeem in de minipig
Achtergrond: Slaapapneusyndroom is een medische term voor een slaapstoornis waarbij tijdens de slaap perioden voorkomen van ademstilstand. Men spreekt van een Slaapapneusyndroom (SAS) als dit meer dan 5 stilstanden per uur bedraagt. Hierdoor daalt het zuurstofgehalte in de weefsels. De hersenen geven het lichaam een signaal om wakker te worden. Na ontwaken, vaak met een schok, wordt de ademhaling weer hervat. Een van de oorzaken is de obstructie van de luchtpijp door de tong.

Voor deze groep van patiënten is een te implanteren systeem ontwikkeld wat de tong verhindert terug te vallen in/voor de luchtpijp.
Doel/hypothese: Het primaire doel van het beschreven project is de bestudering van de interactie van de verschillende componenten van het tong suspensie systeem met de biologische omgeving, de omgeving waarin het systeem is geïmplanteerd en de eisen waar het systeem aan moet voldoen verder te specificeren.
Globale aanpak vraagstelling: In de beschreven studie wordt het tong suspensie systeem geïmplanteerd in minipigs. Er zullen verschillende hypotheses worden getest, met de bedoeling een beter begrip te ontwikkelen over de interactie van het implantaat met de biologische omgeving. Dit alles met het uiteindelijk doel een effectief apparaat te ontwikkelen dat kan worden gebruikt in patiënten lijdend aan slaapapneu. De studie kan alleen plaatsvinden in een in-vivo model zoals de minipig vanwege de complexiteit van de te bestuderen interacties met de omliggende biologische omgeving.

Titel studie: Effect van een 14-daagse dampkuur op de luchtwegen van gezonde paarden
DEC nummer: 2012.III.04.034

Effect van een 14-daagse dampkuur op de luchtwegen van gezonde paarden
Achtergrond: Voordat patiënten behandeld gaan worden in de nieuwe dampbox zal deze in een pilotstudie getest worden (met 7 onderwijspaarden en 3 controle onderwijspaarden) op acceptatie en werking door een 14-daagse kuur in de dampbox (1 x daags een uur) met onderzoeken vooraf en naderhand om de effecten te meten.
Doel/hypothese: 1) Paarden accepteren een verblijf in de dampbox en staan er zonder enige vorm van stress. 2) Luchtwegen worden na een 14 dagen kuur (1 x daags 1 uur) schoon op endoscopisch (video) beeld. 3) Bij een longspoeling is na de kuur de celtelling verminderd en zijn er significant minder ontstekingscellen aanwezig.
Globale aanpak vraagstelling: Tien paarden van het departement Gezondheidszorg Paard worden klinisch onderzocht voor aanvang van het onderzoek. Met een bloedafname wordt ontstekingsbloedbeeld en gasuitwisseling bekeken. Vervolgens worden de voorste luchtwegen geïnspecteerd m.b.v. endoscopie. Hierna wordt er een slangetje in de slokdarm gebracht, waarmee een ballonnetje wordt opgeblazen dat aangesloten wordt op een computer om de longdrukverschillen te meten tussen inademing en uitademing. Daarna worden de paarden gesedeerd en wordt een longspoeling gedaan. Daarna gaan 7 van de 10 paarden gedurende 14 dagen dagelijks een uur in de dampbox waarna ze een uur in de stapmolen gaan. Drie van de 14 keer wordt een singel omgedaan met plakkers om de hartfrequentie van het paard tijdens de dampkuur buiten deze box te kunnen aflezen. Na deze kuur worden de onderzoeken herhaald en vergeleken met de situatie vóór de kuur. Om te kunnen meten wat het effect van de kuur op paarden is kan het onderzoek alleen met paarden worden uitgevoerd.

Titel studie: De effecten van Phytonics' Gluco balance op glucose homeostase in obese insuline resistente pony's
DEC nummer: 2012.III.04.035

De effecten van Phytonics' 'Gluco balance' op insuline gevoeligheid en overgewicht bij pony's
Achtergrond: Het metabool syndroom is een relatief nieuw syndroom bij paarden. Het syndroom kenmerkt zich door symptomen als overmatige vetophoping en insulineongevoeligheid. Deze symptomen samen geven een verhoogde de kans op het ontwikkelen van hoefbevangenheid, een zeer pijnlijke en zelfs levensbedreigende aandoening van de onder voet. Tot op heden is er geen geschikte therapie voor insuline resistentie bij het paard. Veel middelen zitten nog in het experimentele stadium. 'Gluco balance' is een fytotherapeutisch middel waarmee in de praktijk reeds goede resultaten

behaald lijken te worden bij te dikke paarden, echter het effect op de insuline gevoeligheid is niet bekend.
Doel/hypothese: Het wetenschappelijk onderzoeken van de effecten van 'Gluco balance' op de vetstapeling en insuline resistentie bij te dikke insuline resistentie pony's.
Globale aanpak vraagstelling: Het uitvoeren van een dubbelblind, placebogecontroleerd onderzoek bij een groep van 14 shetlandpony's, die bewezen (d.m.v. een bloedonderzoek) insuline-ongevoelig zijn. Zeven pony's krijgen gedurende 6 weken gluco balance en de andere zeven pony's krijgen een placebo. Voorafgaand en na afloop wordt een gecombineerde glucose insuline tolerantie test uitgevoerd. Wekelijks worden verder metingen verricht om de lichaamsconditie te monitoren (wegen, bloeddrukmeting, echografisch). Voor en na de studie wordt het vetgehalte bepaald door middel van een tracer verdunnings methode (D2O). Pony's staan gedurende het onderzoek in de weide en krijgen dagelijks 10 minuten beweging door middel van afstappen. Het is belangrijk om het effect van het middel te meten in de doelgroep (te weten te dikke insuline resistente paarden) van het product om betrouwbare resultaten te krijgen over de werkzaamheid.

Titel studie: Injection of biomaterials containing OP-1 in laboratory Beagle dogs with spontaneous early IVD degeneration
DEC nummer: 2012.III.04.036

Injectie van biomaterialen met en zonder OP-1 in laboratorium Beagles met spontane vroege slijtage van de tussenwervelschijf (IVD)
Achtergrond: Uit onderzoek blijkt dat 80% van de mensen lage rugpijn ervaart in het leven. Ook bij specifieke hondenrassen komt lage rugpijn regelmatig voor. Tussenwervelschijfslijtage wordt als een van de meest voorkomende oorzaken hiervoor gezien. De huidige behandelmethoden, inclusief operatieve behandelingen, zijn gericht op het verlichten van pijn. Er is een sterke behoefte aan betere methoden. In het kader van 'Regeneratieve Geneeskunde' wordt gezocht naar een methode die de slijtage van de tussenwervelschijf kan stoppen of zelfs kan omdraaien. Injecteerbare materialen, waaraan een medicijn gekoppeld kan worden, zijn ontwikkeld en deze zijn in een eerder experiment succesvol in de tussenwervelschijf aangebracht. Het doel van de huidige studie is om een specifiek eiwit met vernieuwende kwaliteiten (OP-1) te koppelen aan de injecteerbare materialen en in de tussenwervelschijf aan te brengen met als doel het slijtageproces te stoppen of te herstellen. Dit zal allereerst plaatsvinden in laboratorium Beagles met spontane slijtage van de tussenwervelschijf.
Doel/hypothese: Het belangrijkste doel van dit onderzoek is het effect te bepalen van hydrogels/microsferen die ongeladen zijn, of geladen met het eiwit OP-1, op spontaan gedegenereerde tussenwervelschijven van laboratorium Beagles. Een tweede doel is om de toepasbaarheid van T1rho-gewogen MRI-opnamen te beoordelen bij de behandeling van tussenwervelschijven met OP-1 en dit te vergelijken met de T2-gewogen opnamen die voornamelijk gebruikt worden om tussenwervelschijfslijtage te kwalificeren.
Globale aanpak vraagstelling: In 8 Beagles worden per hond om en om en willekeurig ingedeeld, in 4 tussenwervelschijven in de lage rug, injecties van 30 ul met een 29 Gauge naald via een chirurgische procedure toegediend. De honden worden voor de operatie onderworpen aan een klinisch onderzoek en er zal een MRI worden gemaakt om de graad van degeneratie van de tussenwervelschijven vast te stellen. De operatie zal worden uitgevoerd door één specialist veterinair chirurg (Dr. B.P. Meij). Het klinisch onderzoek en de MRI zullen na 6, 12 en 24 weken worden herhaald. De MRI op 24 weken zal worden uitgevoerd na euthanasie van de dieren. Post-mortem worden alle lumbale tussenwervelschijven verzameld voor weefsel- en celonderzoek, biochemische bepalingen en genetisch onderzoek. De Beagle is een spontaan dierziektemodel voor tussenwervelschijfslijtage en is de beste vergelijking met de situatie bij de mens. In een eerder onderzoek zijn de biomaterialen (gels en microsferen) al zonder problemen toegediend in een overeenkomstige chirurgische procedure. N.a.v. de resultaten uit deze onderzoeken zal besloten kunnen worden deze middelen ook in veterinaire en humane patiënten te gaan testen.

Titel studie: Prophylaxis of Infection using a Hydrogel Coating with an Antibacterial and Antibiofilm agent on a Titanium Implant. An experimental study in the rabbit
DEC nummer: 2012.III.04.037

Preventie van infectie door gebruik van hydrogel als drager van antibiotica of antibiofilm middel op een Titanium implantaat. Een experimentele studie in het konijn

Achtergrond: De totale heupprothese (THP) en knieprothese (TKP) zijn de meest succesvolle orthopedische implantatie operaties. In 2% van de gevallen treedt hierbij een infectie op. Aangezien er jaarlijks wereldwijd enorme aantallen protheses geplaatst worden, zijn er ook nog forse infectie aantallen. Daarnaast brengt een geïnfecteerde prothese hoge morbiditeit en grote kosten met zich mee. Daarom verdient de preventie van infectie de hoogste aandacht. Bij gecementeerde protheses heeft de toevoeging van antibiotica aan het botcement door afname van infectiepercentages de overlevingsduur verbeterd. De laatste jaren worden er echter steeds meer ongecementeerde protheses geplaatst. Vanuit de kliniek, is er de vraag of de toevoeging van een drager met antibiotica of een antibiofilm middel op het oppervlak van de prothese de infectiegevoeligheid kan verminderen in geval van een primaire (=voor het eerst geplaatste) prothese, dan wel hernieuwde infectie kan voorkomen in geval van een revisie met een ongecementeerde prothese? Met voor de kliniek als eindresultaat dat faalpercentages van ongecementeerde protheses verder afnemen.

Doel/hypothese: Bepalen van de effectiviteit van de toevoeging van een Hydrogel met een antibioticum of antibiofilm middel op de infectiegevoeligheid en botintegratie, in vergelijking met implantaten waarop niet deze drager is aangebracht. De hypothese is dat de toevoeging de Hydrogel met AB of antibiofilm middel op het oppervlak van het implantaat een beschermend heeft en er in deze groep minder infectie en een beter bot-implantaat contact is ten opzichte van de groep waarop geen dragers aangebracht.

Globale aanpak vraagstelling: In een konijnenmodel zal onderzocht worden hoe we via een nieuwe coating het ontstaan van infecties bij orthopedische protheses kunnen bestrijden. In deze coating die op het oppervlak van het implantaat zit, zal de effectiviteit van verschillende antibacteriële middelen getest worden. Daartoe zal het implantaat met coating in het bot geplaatst worden.

Titel studie: Kan oxidatieve stress geïnduceerd worden in ons diermodel na het toedienen van intraveneus ijzer complexen
DEC nummer: 2012.III.04.038

Therapeutisch ijzer: Toxiciteit van verschillende ijzermedicijnen

Achtergrond: IJzergebrek is een veelvoorkomend probleem. Het kan leiden tot vermoeidheid, haaruitval, maar ook groeistoornissen en depressie. Om ijzergebrek te behandelen, zijn verschillende ijzermedicijnen op de markt. Deze medicijnen kunnen echter leiden tot schade/toxiciteit aan de lever, hart, en nieren. In deze studie willen we de concentratie bepalen waarbij deze schade ontstaat in een veel gebruikte diermodel. Hierdoor kan uiteindelijk bepaald worden welke ijzermedicijnen op de markt minder schadelijk kunnen zijn voor patiënten.

Doel/hypothese: Het bepalen van een dosis-toxiciteit curve van een veel gebruikt ijzer medicijn en positieve controle.

Globale aanpak vraagstelling: Ratten zullen éénmalig of gedurende 5 weken ijzermedicijnen of controle oplossing toegediend krijgen via i.v. injectie. De dieren worden 1x per week geïnjecteerd. Op verschillende tijdspunten zal bloed worden afgenomen en getest worden op ijzerconcentratie. Post mortem zullen de nieren, hart en lever op toxiciteit bestudeerd worden. Dit onderzoek wordt in ratten uitgevoerd omdat een organisme met een intact immuunsysteem vereist is.

Titel studie: FOK KPC-eYFP 04-204
DEC nummer: 2012.III.04.039

Achtergrond/doel: Alvleesklierkanker is een van de meest dodelijke kwaadaardige ziektes die we kennen. Het verbeteren van de therapieën voor patiënten met deze ziekte is een belangrijk doel van ons onderzoek. De in deze fok gegenereerde muizen krijgen spontane alvleesklier tumoren die erg goed op de menselijke tumoren lijken en door het inbouwen van een marker gen in alle tumorcellen kan onderzocht worden hoe de tumorcellen bewegen en hoe uitzaaiingen voorkomen kunnen worden.

Titel studie: Vrijgifte van chemotherapeuticum en contrastmiddel uit microsferen na milde hyperthermie
DEC nummer: 2012.III.05.043

Kleine bolletjes voor een doelgerichte en efficiënte behandeling van kanker
Achtergrond: Kanker is een van de meest voorkomende doodsoorzaken in de wereld. De huidige therapieën vallen naast tumorcellen tevens gezonde cellen in het lichaam aan met vervelende bijeffecten tot gevolg. Het is dus van groot belang nieuwe therapieën te ontwikkelen die leiden tot minder bijeffecten en een grotere kans op genezing. In het UMC Utrecht hebben wij kleine bolletjes ontwikkeld welke we gericht bij de tumoren kunnen brengen. In deze bolletjes zit een anti-kanker medicijn en contrastvloeistof, wat vrijkomt bij een milde lokale temperatuursverhoging (maximaal 45 graden). Via MRI zijn we dan in staat de vrijgifte van het contrastmiddel te volgen. Daarnaast kijken we naar het effect van het anti-kanker medicijn op de grootte van de tumor.
Doel/hypothese: Met dit onderzoek willen we de (lokale) vrijgifte van een anti-kanker medicijn vanuit een door ons ontwikkeld type bolletje onderzoeken via MRI scans en tevens het effect onderzoeken van het medicijn op tumoren.
Globale aanpak vraagstelling: Er worden tumoren gekweekt in het oor van een konijn waarna de bolletjes dichtbij de tumorlocatie worden ingespoten. Daarna wordt de temperatuur van de oren enkele graden verhoogd met een warmtebadje (maximaal 45 graden). De vrijgifte van het contrastmiddel wordt gevolgd via MRI. Op deze manier zijn we in staat de vrijgifte van een medicijn vanuit de bolletjes te voorspellen, waarna we de grootte van de tumor in de tijd zullen volgen.

Titel studie: Het metastasespectrum van invasief lobulair carcinoom bij de muis; ziekteprogressie en behandeling (Kandidaatgenen)
DEC nummer: 2012.III.05.044

Op weg naar een behandeling op maat voor invasief borstkanker
Achtergrond: Uitzaaiing bij borstkanker is een belangrijke doodsoorzaak onder vrouwen. Behandeling beperkt zich momenteel tot palliatieve zorg en symptoombestrijding. Deze muismodellen zullen hopelijk bijdragen tot het ontwikkelen van alternatieve therapeutische interventie strategieën.
Doel/hypothese: Het bestuderen van genen die een bijdrage leveren aan uitzaaiend borstkanker door het genereren en bestuderen van conditionele muismodellen die de basis vormen voor studies naar het ontstaan en de progressie van invasief lobulair mammacarcinoom (ontstaan in de melkklieren).
Globale aanpak vraagstelling: Weefselspecifieke conditionele muizen bieden de unieke mogelijkheid om tumorsuppressorgenen (genen die onbeperkte deling van de cel voorkomen, en daarmee het ontstaan van een tumor verhinderen) te inactiveren. Zodoende kunnen modelsystemen gecreëerd worden die een grote gelijkenis vertonen met de humane situatie. Dit geeft ons de kans om een menselijke vorm van borstkanker nauwgezet te bestuderen in de muis.

Titel studie: Gezondheidsbewaking GDL
DEC nummer: 2012.III.05.045

Gezondheidsbewaking van knaagdieren van het Gemeenschappelijk Dieren Laboratorium (GDL)
Achtergrond: Micro-organismen kunnen de gezondheid en het welzijn van dieren negatief beïnvloeden en/of effect hebben op het verloop en/of de resultaten van dierexperimenten. Kennis van de microbiologische gezondheidsstatus van

dieren in het Gemeenschappelijk Dieren Laboratorium is om deze redenen essentieel. Laboratoriumdieren die zoveel mogelijk gestandaardiseerd zijn dragen bij aan de reproduceerbaarheid van dierexperimenten. Deze reproduceerbaarheid is essentieel is in het wetenschappelijk onderzoek. Microbiologische standaardisatie heeft als doel laboratoriumdieren af te leveren met een vooraf gedefinieerde microbiologische kwaliteit en kan als hulpmiddel dienen bij de handhaving van deze kwaliteit gedurende het hele experiment.
Doel/hypothese: Door middel van microbiologische screening van verklikkerdieren krijgen we informatie over de microbiologische status van de andere, in dezelfde unit gehuisveste, dieren van dezelfde diersoort. Voor dit doel worden dieren gebruikt die bij aanvang van het experiment een welbekende microbiologische status hebben en een volledig werkende afweersysteem hebben.
Globale aanpak vraagstelling: Het GDL volgt bij de gezondheidsbewaking de richtlijnen van de overkoepelende Europese federatie van proefdierkundige verenigingen (FELASA = Federation of European Laboratory Animal Science Associations). Daartoe wordt er in elke dierkamer een verklikkerdier (met gezelschapsdier) geplaatst van dezelfde diersoort als de overige dieren in de betreffende dierkamer. Door deze dieren in contact te brengen met verontreinigde bedding en met de lucht van de overige dieren van de unit, verwachten we dat de aanwezige microbiële ziekteverwekkers zullen worde overgedragen op deze verklikkerdieren. Voor het aantonen van besmettingen in proefdieren zijn er tot op heden geen andere methoden beschikbaar dan het screenen van dieren.

Titel studie: Controlled release of active compounds from microspheres and hydrogels in laboratory Beagle dogs with early intervertebral disc degeneration
DEC nummer: 2012.III.05.046

Evaluatie van het injecteren van gecontroleerde afgiftesystemen met of zonder celecoxib in tussenwervelschijven met spontane vroege slijtage van laboratorium Beagles
Achtergrond: Meer dan 60% van de mensen krijgt last van rugpijn. Ook bepaalde hondenrassen hebben hier vaak last van. Tussenwervelschijfslijtage is de meest voorkomende reden hiervoor. Omdat aan de huidige chirurgische behandelingen nadelen kleven zoals zware operaties, hoge kosten en relatief grote kans op terugval, wordt gezocht naar betere methoden. Deze moeten het slijtageproces kunnen stoppen of zelfs omdraaien. Enkele injecteerbare materialen zijn ontwikkeld om (uitgerust met toegevoegde medicijnen) in de tussenwervelschijf van patiënten (mens en hond) geïnjecteerd te worden met als doel het herstellen van het ziekteproces van de tussenwervelschijf. Deze zullen allereerst in honden worden getest.
Doel/hypothese: Verwacht wordt dat gecontroleerde afgiftesystemen een meerwaarde hebben boven het eenmalig toedienen van een actieve stof (celecoxib) en dat deze manier van toedienen een aantoonbaar groter effect zal hebben op het verlagen van de concentratie van een ontstekingsmediator (PGE2) in de tussenwervelschijven dan de injecties zonder afgiftesysteem.
Globale aanpak vraagstelling: In 8 Beagles worden per hond in 8 tussenwervelschijven in de lage rug, injecties met een naald met een zeer kleine diameter, via een chirurgische benadering toegediend. De honden worden voor de operatie onderworpen aan een klinisch onderzoek en er wordt een MRI gemaakt om de graad van slijtage van de tussenwervelschijven vast te stellen. Na 4 weken zal de MRI worden herhaald en aansluitend zullen de honden worden geëuthanaseerd. Post-mortem worden alle tussenwervelschijven van de lage rug verzameld voor weefsel- en celonderzoek, biochemische bepalingen en genexpressie bepalingen. De Beagle is een spontaan dierziektemodel voor tussenwervelschijfslijtage en is de beste vergelijking met de situatie bij de mens. In de reeds uitgevoerde pilot studie zijn de biomaterialen (gels en microsferen) al zonder problemen toegediend in
een overeenkomstige chirurgische procedure. N.a.v. de resultaten uit dit onderzoek zal besloten kunnen worden deze middelen ook in veterinaire en humane patiënten te gaan testen.

Titel studie: Het effect van chromosoominstabiliteit op borsttumorgroei in MMTVNeu muizen
DEC nummer: 2012.III.05.047

Het effect van foute verdeling van het erfelijk materiaal tijdens de celdeling op het ontstaan en de ontwikkeling van borsttumoren
Achtergrond: Tijdens de celdeling wordt het erfelijk materiaal (chromosomen) eerlijk verdeeld over de dochtercellen. Wanneer deze verdeling niet goed verloopt krijgen de dochtercellen ongelijke hoeveelheden chromosomen. Een groot deel van de cellen in tumoren hebben ongelijke hoeveelheden chromosomen. De vraag is nu of deze ongelijke verdeling een oorzaak is van kanker en of dit tumorvorming kan versnellen of vertragen. We hebben onlangs een muismodel gemaakt waarin het eiwit Mps1 (gedeeltelijk) geïnactiveerd kan worden. Dit zorgt voor ongelijke verdeling van de chromosomen. In deze studie gaan we het effect van gedeeltelijk geïnactiveerd Mps1 op borsttumoren bestuderen.
Doel/hypothese: We verwachten effecten te zien op het ontstaan en/of op de ontwikkeling van borsttumoren wanneer Mps1 gedeeltelijk of geheel geïnactiveerd is. Deze effecten zullen snellere dan wel langzamere groei van deze tumoren zijn. Ook verwachten we verschillen in snelheid van uitzaaiing naar de longen als Mps1 activiteit verminderd is. Na complete inactivatie van Mps1 in reeds ontwikkelde borsttumoren verwachten we te zien dat de tumor verdwijnt.
Globale aanpak vraagstelling: We zullen in muizen, die normaal gesproken borsttumoren ontwikkelen, ongelijke chromosoom verdeling induceren en de effecten op borsttumorontwikkeling bepalen. Ontwikkeling van tumoren en uitzaaiingen zijn processen die alleen in een levend organisme goed bestudeerd kunnen worden. Daardoor is voor dit specifieke experiment de inzet van proefdieren noodzakelijk.

Titel studie: The effect of pain relief upon welfare of lame pigs
DEC nummer: 2012.III.05.048

Het effect van pijnstilling op het welzijn van kreupele varkens
Achtergrond: Kreupelheid is een veel voorkomend probleem in de huidige varkenshouderij. Kreupelheid veroorzaakt chronische pijn. Om de pijn te verlichten zijn er verschillende preparaten beschikbaar, die echter niet door alle veehouders en dierenartsen routinematig worden ingezet bij de behandeling van kreupele varkens. In dit onderzoek wordt getracht het effect van pijnstilling op het welzijnsniveau van kreupele varkens vast te stellen. Dit kan helpen om een wetenschappelijk onderbouwd behandelplan voor kreupele varkens op te stellen waarbij een duidelijke plek is weggelegd voor pijnstilling. Daarnaast kan een dergelijk protocol ook handvaten geven voor de beslissing of dieren getransporteerd mogen worden naar een abattoir. Dieren die volgens dit protocol behandeld moeten worden kunnen i.v.m. wachttijden niet geslacht worden.
Doel/hypothese: Het onderzoek bestaat uit twee fases. In de eerste fase testen we het effect van de pijnstiller op onze uitleesparameters in gezonde varkens om zo een optimale dosis te vinden en de mogelijke bijwerkingen te kwantificeren. Met deze optimale dosis testen we vervolgens het effect van pijnstilling bij kreupele varkens.
Globale aanpak vraagstelling: In fase 1 worden vierentwintig gezonde varkens in drie groepen verdeeld. Van iedere groep worden de locomotie (visueel), het gedrag (open field test), temperatuur en ademfrequentie opgenomen. Daarna worden ze behandeld met de pijnstiller. Na 4 uur worden de metingen herhaald om vast te stellen wat het effect van de pijnstiller is. Daarna wordt de optimale dosis voor fase 2 vastgesteld. In fase 2 worden twintig kreupele varkens van een regulier bedrijf gehaald. De helft van deze kreupele dieren krijgt een placebo toegediend, de andere helft een sterke pijnstiller. Om het welzijnsniveau vast te stellen wordt er naar verschillende parameters gekeken. Ten eerste wordt de gang van alle varkens beoordeeld. Dit geschiedt doormiddel van observatie door een onafhankelijke beoordelaar “met het blote oog” en daarnaast door het meten van de krachten op de verschillende poten met een footscan. Ten tweede wordt het gedrag beoordeeld met een “open field test”, waarmee een indruk kan worden gekregen van het activiteitsniveau van het varken. Als laatste wordt naar een aantal basiswaarden (temperatuur, ademhaling) gekeken en wordt bloed afgenomen en een

beetje haar afgeschoren om naar de niveaus van het “stresshormoon” cortisol te kijken. Bloed geeft een afspiegeling van het niveau op korte termijn, haren op lange termijn. Na de eerste meting krijgen de varkens de pijnstiller in de in fase 1 vastgestelde dosis. Na 4 uur, als het effect volledig is, worden alle metingen herhaald. Na afloop van de proef worden de varkens geëuthanaseerd en wordt door middel van pathologisch onderzoek gekeken welk ziekteproces er gaande was.

Titel studie: Rol van CXCL12, IL-7 en TSLP in het ondersteunen van de groei van pediatrische acute lymfoblastische B cel leukemie
DEC nummer: 2012.III.05.049

Het bepalen van de in vivo rol van het door beenmergcellen geproduceerde CXCL12, IL-7 en TSLP in het ondersteunen van de groei van pediatrische acute lymfoblastische B cel leukemie

Achtergrond: Acute lymfoblastiche B cel leukemie (B-ALL) is de meest voorkomende kanker in kinderen. Ondanks verbeteringen in de behandeling is terugval na behandeling voor ALL de meest voorkomende oorzaak van kanker-gerelateerde dood in kinderen en jong-volwassenen. Experimenten in reageerbuizen hebben aangetoond dat beenmergcellen mogelijk een rol kunnen spelen in de groei/overleving van B-ALL cellen, zowel voor als tijdens de behandeling. Mogelijk speelt deze door beenmergcellen veroorzaakte overleving ook een belangrijke rol in het niet werken van bepaalde behandelmethoden. De productie van verschillende stoffen (IL7, TSLP en CXCL12) door de beenmergcellen lijkt hier een belangrijke rol in te kunnen spelen. Echter, de exacte rol van deze door beenmergcellen geproduceerde stoffen in de groei van B-ALL cellen in het lichaam van een individu met B-ALL is onbekend. Daarom willen wij in deze studie met behulp van een door ons nieuw ontwikkeld proefdiermodel dat het menselijk beenmerg nabootst in een muis, de rol van deze stoffen in de groei van B-ALL cellen bestuderen.

Doel/hypothese: Dit onderzoeksvoorstel heef tot doel om te bestuderen of deze door beenmergcellen geproduceerde stoffen inderdaad een rol kunnen spelen in de in vivo groei van B-ALL cellen en welke van deze stoffen hiervoor het belangrijkst is.

Globale aanpak vraagstelling: De van patiënten afgenomen leukemiecellen blijken nauwelijks of niet in vitro te kweken te zijn hetgeen het bestuderen van specifieke groei-eigenschappen en gevoeligheid voor nieuw te ontwikkelen therapieën ernstig bemoeilijkt. Veel onderzoek vindt plaats met cellijnen, maar de algemene opinie is dat deze sterk verschillen met de oorspronkelijk tumorcellen van patiënten. Het speciaal door ons ontwikkelde “gehumaniseerde” of vermenselijkt muismodel maakt het wél mogelijk om de gewenste studies te doen. Hiertoe wordt er eerst in een muis een menselijke bot-omgeving gecreëerd door implantatie van een scaffold die bezaaid is met botvormende menselijke stamcellen. In de muis ontwikkelt zich dan menselijk bot met daarop beenmergcellen die bloedcel groei kunnen beïnvloeden. Hierop kunnen vervolgens ingespoten bloed stamcellen (hetzij normaal of leukemisch) zich vestigen en daarna normale of abnormale bloedcellen gaan produceren. Dit biedt ons vervolgens de mogelijkheid om de biologische processen die deze stamcelgroei reguleren, in een “natuurlijke omgeving” te bestuderen en mede daardoor nieuwe vormen/middelen van therapie te ontwikkelen. Gelet op de bijzonder omstandigheid dat een beenmergomgeving niet in vitro is na te bootsen, is het niet mogelijk om zonder het gebruik van proefdieren (in dit geval muizen) deze noodzakelijke experimenten uit te voeren.

Titel studie: Controlled release of Celecoxib by Gel #17 in combination with Bone regeneration with decellularized cartilage scaffolds
DEC nummer: 2012.III.05.051

(I) - Behandeling van artrose met behulp van biomateriaal, (II) - Kraakbeen-en botregeneratie met behulp van kraakbeen-afgeleide scaffolds

Achtergrond: (I) - Artrose is een aandoening waarbij het gewrichtskraakbeen in kwaliteit achteruit gaat en op den duur zelfs geheel kan verdwijnen. De bot uiteinden komen dan tegen elkaar. Hierdoor kunnen er ook problemen ontstaan met het onderliggende bot. Als reactie op de verminderde kraakbeen bescherming gaat het bot zijn dragende oppervlak vergroten om de druk op het gewricht te verminderen. Het gewricht kan daardoor uitsteeksels vormen, dikker worden en misvormd raken. Hierdoor worden bewegingen pijnlijk. (II) - Onderzoek binnen de regeneratieve geneeskunde heeft geleid tot het produceren van implantaten gemaakt van natuurlijk kraakbeenweefsel, welke zowel kraakbeen als botregeneratie lijken te stimuleren. Het natuurlijke kraakbeen dat gebruikt wordt in deze scaffolds wordt behandeld met enzymen om de cellen te verwijderen, terwijl andere bioactieve cues, zoals groeifactoren mogelijk aanwezig blijven. De combinatie van een natuurlijke omgeving voor het regeneratieweefsel en deze bioactieve cues stimuleren mogelijk de regeneratie. Om dit te evalueren wordt deze studie naar botregeneratie uitgevoerd.

Doel/hypothese: (I) - Het testen van celecoxib afgifte van gel #17 in een paardengewricht. Gel #17 is een thermo responsieve gel (stolt bij 37 C). Deze gel wordt vervolgens geladen met artrose remmend geneesmiddel, namelijk celecoxib. In deze aanvraag richten wij ons op de duur van afgifte van celecoxib door de gel. (II) - Het doel is het evalueren van botregeneratie in kleine botdefecten in
de bekkenkam.

Globale aanpak vraagstelling: (I) - Het is gebleken dat het veilig is om gel #17 te injecteren in het gewricht van paarden. Nu zal worden gekeken naar de duur van farmaca afgifte door gel #17. De gel zal geladen worden met een artrose remmend geneesmiddel, namelijk Celecoxib. Celecoxib wordt in de kliniek gebruikt voor de behandeling van osteoarthritis. Ook willen wij onderzoeken hoe de gel zich verhoudt ten opzichte van een bestaande behandeling, nm. Hyonate® (Bayer). Dit zal gebeuren aan de hand van markers in de gewrichtsvloeistof. Deze markers geven een indicatie of de toestand van het kraakbeen verbeterd, dan wel verslechterd. (II) - Er zullen per paard 2 botdefecten (11mm diameter en 10mm diep) in de bekkenkam gemaakt worden. Het ene botdefect wordt leeggelaten, en het tweede botdefect wordt opgevuld met een kraakbeenimplantaat. Aangezien wij bezig zijn met het ontwikkelen van een nieuwe behandelingsstrategieën voor paarden, is het nodig beide onderzoeken uit te voeren in het dier waar de strategieën voor ontwikkeld worden.

Titel studie: Effect of the uterine environment on equine embryo development
DEC nummer: 2012.III.05.052

Effect van de baarmoeder op de embryonale ontwikkeling

Achtergrond: Vroeg embryonale sterfte (VES) is een belangrijke bron van economisch verlies binnen de paarden fokkerij. Vijftien tot twintig procent van de merries die op 15 -18 dagen na de dekking drachtig bevonden is, brengt het jaar daarop geen levende veulen ter wereld. Bovendien vindt het merendeel van embryonale sterfte (60%) plaats gedurende de eerste 35 dagen van de dracht. Het begin van het 'innestelen' van het embryo (implantatie) is opmerkelijk laat bij de merrie (v/a 40 dagen) in vergelijking met andere diersoorten (3-5 dagen bij de mens). Bij de mens wordt geschat dat 50% van VES zijn oorsprong heeft bij foutieve synchronisatie tussen uterus en embryo.

Doel/hypothese: Het identificeren van genen/eiwitten die betrokken zijn bij de synchronisatie tussen uterus en het embryo bij het paard. Op basis hiervan zal vervolgens gekeken worden naar de mechanismes waarop synchronisatie plaatsvindt.

Globale aanpak vraagstelling: Embryo's (voor implantatie) en uterus slijmvlies (endometrium) monsters worden gewonnen (door middel van niet-chirurgische technieken) na de verplaatsing van een embryo (embryo transplantatie) in ontvangster merries. Gen en eiwit expressie in deze weefsels wordt onderzocht. Na het identificeren van significante genen zullen de mechanismes van uterus-embryo synchronisatie nader onderzocht worden met behulp van een in vitro systeem waarin embryocellen blootgesteld worden aan de target eiwitten. De benodigde cellen zijn afkomstig van drachtige merries.



Vergadering 20 juni 2012

Titel studie: Effects of an orally applied specific oligosaccharide mixture on the development of the immune system in foals
DEC nummer: 2012.III.05.053

Het effect van de orale toediening van gedefinieerde suikers afkomstig uit melk op de ontwikkeling van de afweer in het veulen

Achtergrond: De capaciteit van bepaalde suikers (uit bijvoorbeeld melk) om ontstekingsprocessen te remmen is duidelijk aangetoond in de mens en in proefdieren. Bij het paard is hier vooralsnog weinig over bekend, terwijl soortgelijke ontstekingsprocessen erg relevant zijn in de paardenpraktijk.
Doel/hypothese: Het doel is om te bekijken of het toedienen van deze onverteerbare suikers aan veulens gedurende de eerste 4 weken van het leven een positieve invloed heeft op de ontwikkeling van het afweersysteem in het paard.
Globale aanpak vraagstelling: Een effect van dit preparaat op ontsteking en afweer is al onderzocht in diverse modellen en diersoorten, inclusief de mens. Eerder toonden wij zelf aan dat het preparaat in een celkweek model van het paard een modulerend effect heeft op de ontstekingsreactie in deze cellen. Het toedienen van dit preparaat aan veulens is naar verwachting geen belasting voor de veulens (het preparaat wordt reeds in humane baby's gebruikt zonder problemen) en het aantonen van een positief effect van het preparaat in een onderzoek met proefdieren is nodig alvorens dit preparaat echt in de praktijk te gaan gebruiken.

Titel studie: Koepelaanvraag landbouwhuisdieren – herkauwer gezond
DEC nummer: 2012.III.06.054

Onderwijs en practica van studenten diergeneeskunde, die zich trainen op het gebied van diagnostiek, en diverse vaardigheden bij landbouwhuisdieren (rund en schaap)

Achtergrond/leerdoel: De professionele instelling van de medewerkers van het Departement Gezondheidszorg Landbouwhuisdieren staat borg voor ethisch verantwoord handelen met betrekking tot de dieren. Studenten moeten onder gecontroleerde omstandigheden in een gedegen training klinische diagnostiek en andere vaardigheden leren aan "echte" dieren. Dit als voorbereiding op het onderwijs in de Universitaire Landbouwhuisdierenpraktijk en het Extern Onderwijs, waar studenten met reële patiënten en eigenaren gaan werken.
Globale aanpak onderwijs: Als voorbeeld de vaardigheid anaesthesie: een koe wordt klaargezet, studenten bereiden zich terdege voor en zij moeten bijvoorbeeld de paravertebrale anaesthesie gaan uitvoeren. De docent houdt scherp in de gaten hoe de handelingen worden uitgevoerd. Hetzelfde gebeurt bijvoorbeeld met andere injectietechnieken, zoals onderhuids, in de spieren of in de ader. Het gebruik van deze dieren is beschreven in verschillende programmaonderdelen en als zodanig niet vervangbaar door andere methoden van onderwijs. Het gaat hier om een minimale training en voorbereiding op het werken met werkelijke patiënten onder praktijkomstandigheden. Waar vervanging van deze proefdieren mogelijk is, is dit in het verleden reeds gerealiseerd.

foto links: Een onderwijs rund in de stal op de campus.



Een onderwijs rund in de overdekte buitenstal op de campus.

Titel studie: Koepelaanvraag landbouwhuisdieren – herkauwer ziek
DEC nummer: 2012.III.06.055

Onderwijs en practica van studenten diergeneeskunde, die zich trainen op het gebied van diagnostiek, en diverse vaardigheden bij landbouwhuisdieren (rund en schaap)
Achtergrond/leerdoel: Bovenstaande is er op gericht om studenten adequaat voor te bereiden op hun toekomstige rol als dierenarts. Studenten kunnen naar ons oordeel alleen de hand- en redeneervaardigheden oefenen met behulp van dieren, waar ook daadwerkelijk diagnoses gesteld kunnen worden. Alleen dan kunnen studenten voldoende worden toegerust om in de latere beroepsuitoefening diagnoses te stellen bij zieke dieren en gerichte therapieën in te stellen. De professionele instelling van de medewerkers van het Departement Gezondheidszorg Landbouwhuisdieren staat borg voor ethisch verantwoord handelen met betrekking tot de dieren.
Globale aanpak onderwijs: Als voorbeeld: 3 dieren met een specifieke aandoening worden onderzocht door een aantal studenten. Zij moeten trachten een differentiaal diagnose op te stellen en uiteindelijk tot een diagnose komen. Vervolgens krijgen de studenten opdrachten om de kennis verder te verdiepen. Deze opdrachten worden vervolgens besproken.

Titel studie: Vitamin D metabolism in neonatal dogs
DEC nummer: 2012.III.06.056

Vitamine D metabolisme bij pasgeborenen
Achtergrond: Vitamine D is een belangrijk vitamine voor pasgeborenen omdat het een belangrijk element is van de calcium-stofwisseling. Vitamine D wordt via het voedsel opgenomen en wordt in de lever omgezet tot 25OHvitamineD waarna het tot zeer actieve metaboliet wordt omgezet in onder meer de nieren en in verschillende doelorganen. Een tekort aan deze actieve metaboliet leidt tot Engelse ziekte, oftewel een slecht gemineraliseerd skelet (rachitis). Melk van vrouwen en melk van honden blijkt vooral 25OHvitamineD te bevatten en weinig vitamine D. Zowel baby's als pups worden voor een belangrijk deel grootgebracht met behulp van kunstmelk. Aan deze melk vervangende producten wordt vaak vitamine D toegevoegd, terwijl uit onderzoek blijkt dat er vooral 25OHvitD in de natuurlijke melk zit, zodat het lijkt alsof de neonaat nog niet in staat is vitamine D in de lever te synthetiseren. Wellicht dat het toevoegen van 25-hydroxyvitamine D een betere c.q. natuurlijker voorziening is voor de neonaat dan vitamine D.
Doel/hypothese: Neonaten kunnen bij voeding met kunstmelk waarin vitamine D (maar geen 25OHvitamine D) is toegevoegd niet in hun vitamine D behoefte voorzien en dus rachitis ontwikkelen.
Globale aanpak vraagstelling: Van een 3-tal nesten zullen de pups worden verdeeld in 2 groepen, waarbij de ene groep wordt grootgebracht met tevenmelk en de andere groep met kunstmelk. De vitamine D status van de neonaat wordt bepaald aan de hand van de concentraties van vitamine D en de belangrijkste metabolieten in het bloed op verschillende tijdstippen. Op de leeftijd van 3 weken wordt autopsie uitgevoerd en de skeletmineralisatie onderzocht en vergeleken tussen de groepen. Hiervoor zijn proefdieren essentieel. In veel onderzoek wordt de hond als proefdier gebruikt voor de mens; in deze aanvraag is de hond zowel proefdier als doeldier.

Titel studie: Verbeterde kweek eilandjes van Langerhans
DEC nummer: 2012.III.06.057

De invloed van het eiwit ELKS en de extracellulaire matrix op de insuline secretie en het overleven van beta-cellen
Achtergrond: Diabetes wordt gekenmerkt door het verlies van de insuline producerende beta-cellen in de eilandjes van Langerhans. Diabetes kan worden genezen door het transplanteren van eilandjes uit de alvleesklier. Een grote beperking hierbij is de gebrekkige kwaliteit van deze donor eilandjes.

Tijdens het isoleren wordt de extracellulaire matrix (ECM) van de eilandjes grotendeels verwoest. ECM is een ingewikkeld netwerk van verbindingen rondom de beta-cellen, die belangrijk is voor het
functioneren en overleven van deze cellen. Een gedetailleerd inzicht in de werking van deze ECM is zeer belangrijk voor het verbeteren van de kwaliteit van eilandjes voor transplantatie.
Doel/hypothese: In dit onderzoek willen wij proberen beter te begrijpen hoe ELKS betrokken is bij de secretie van eiwitten en zo kan bijdragen aan de insuline productie en het overleven van beta-cellen onder de invloed van de extracellulaire matrix na isolatie uit de alvleesklier.
Globale aanpak vraagstelling: Alle experimenten zullen worden gedaan na doden van de muizen. De eilandjes van Langerhans zullen op kweek gezet worden. We laten deze cellen eerst groeien en doen vervolgens al onze experimenten in deze geweekte cultuur tot 2 weken na isolatie uit de gedode muis (langer zijn de cellen niet in leven). De cellen worden getransfecteerd met verschillende DNA constructen (GFP-fusie eiwitten, RNA interferentie plasmide) om het mechanisme van insuline secretie te ontrafelen. Hiernaast worden er verschillende weefsels, (w.o. alvleesklier, long, hart, brein, nier, darm, spier, huid) uit de muizen geïsoleerd om nieuwe eiwitten te identificeren die ook een rol kunnen spelen bij het overleven van de beta-cellen.

Titel studie: Onderwijsprogramma GDL
DEC nummer: 2012.III.06.058

Onderwijsprogramma medewerkers en stagiaires GDL
Achtergrond/leerdoel: In het GDL voeren de interne medewerkers in opdracht van de onderzoekers handelingen aan de proefdieren uit. Tevens worden stagiaires van diverse proefdier gerelateerde opleidingen in relevante praktijkvaardigheden getraind. Ten bate van onderzoekers, experimenten en dieren in experiment dienen betreffende medewerkers en stagiaires niet alleen bevoegd, maar ook bekwaam en dus adequaat getraind te zijn. Van elke persoon wordt vooraf bepaald wie welke technieken, bij welke diersoort (en hoe vaak) gaat trainen. Van elke medewerker en stagiaire die technieken aanleert c.q. onderhoudt, wordt een trainingsrecord bijgehouden.
Globale aanpak onderwijs: Binnen het GDL loopt een opleidingsprogramma waarin verschillende routine biotechnische handelingen getraind worden. Hiervoor zijn proefdieren noodzakelijk om zo de bekwaamheid van de deelnemers te vergroten. Er worden bij voorkeur surplus dieren voor dit doel gebruikt. Het onderwijs wordt gegeven aan de hand van de in het GDL kwaliteitszorgsysteem ISO 9001.

Titel studie: Physiological, morphological, and molecular biological studies on the endocrine Physiological, morphological, and molecular biological studies on the endocrine regulation of spermatogenesis in fish
DEC nummer: 2012.III.06.059

Hormonale regulatie van de zaadcelvorming bij vissen
Achtergrond: De zaadcelvorming begint met de spermatogoniale stamcel (SSC). De SSC kan twee typen van celdeling ondergaan, de “self-renewal” deling waaruit twee nieuwe, onafhankelijke SSC’s voortkomen, of een differentiërende deling die twee spermatogonia oplevert, de voorlopercellen van de zaadcellen; bij differentiërende delingen blijven de dochtercellen in alle volgende delingen met elkaar verbonden. Het evenwicht tussen deze twee typen celdelingen moet nauwkeurig worden gereguleerd: te veel self-renewal leidt tot onvruchtbaarheid omdat te weinig differentiërende kiemcellen gevormd worden; te veel differentiërende delingen leiden ook tot onvruchtbaarheid omdat de voorraad aan SSC’s mettertijd uitgeput raakt en het gehele proces uitdooft. De SSC’s bevinden zich in een specifieke niche. De omstandigheden in de niche bepalen of een SSC een self-renewal of een differentiërende deling ondergaat. Er is weinig bekend over

de eigenschappen van de niche (bv. welke boodschapperstoffen zijn aanwezig, wat is de werking van deze moleculen, en hoe wordt hun productie aangestuurd). Men gaat er vanuit dat bloedvaten een bron van signaalstoffen zijn, maar dat vooral de somatische cellen in de testis (cellen van Leydig en van Sertoli) boodschappermoleculen produceren. Hormonen uit de hypofyse, met name FSH, reguleert bij vissen de vrijzetting van hormonen/groeifactoren uit de cellen van Leydig en van Sertoli en daarmee indirect het delingsgedrag van de SSC's.
Doel/hypothese: Een deel van het onderzoek richt zich op het opsporen van verdere signaalmoleculen die door somatische cellen van de testis onder invloed van FSH geproduceerd worden. Een ander deel van het onderzoek richt zich op het verdere ophelderen van het werkingsmechanisme van eerder geïdentificeerde, voor FSH gevoelige groeifactoren. Ten slotte is gepland m.b.v. transgene vissen die fluorescente eiwitten in verschillende celtypen van de testis tot expressie brengen (i) de stamcel niche waarin de SSC's verkeren morfologisch beter te karakteriseren, en (ii) fluorescente cellen op te zuiveren en veranderingen van genexpressie in specifieke celtypen te bestuderen.
Globale aanpak vraagstelling: De zebravissen worden in vivo of aan geen voorbehandeling blootgesteld of enkele weken in water gehouden waarin een geslachtshormoon in een lage concentratie aanwezig is om de zaadcelvorming stil te leggen. Vervolgens worden de dieren gedood en testis weefsel wordt gebruikt voor weefselkweek studies. Tot nu toe zijn er geen 'echte' in vitro systemen of computermodellen beschikbaar voor het bestuderen van de zaadcelvorming wat mogelijk een gevolg is van het feit dat het hierbij gaat om een complex, cellulair ontwikkelingsproces waarbij meerdere celtypen met elkaar over een lange periode moeten samenwerken, aangestuurd door signaalmoleculen uit verschillende bronnen binnen en buiten de testis. Wel kan bij vissen – i.t.t. zoogdieren – de zaadcelvorming in primaire weefselcultuur bestudeerd worden. Wij hebben een testis weefselkweeksysteem voor de zebravis ontwikkeld dat ons in staat stelt een groot deel van het geplande onderzoek in weefselkweek uit te voeren. Dit zijn weliswaar telkens nieuwe, primaire kweken maar experimenten in vivo met levende dieren kunnen op deze manier vervangen worden.

Vergadering 11 juli 2012

Titel studie: Bloeddrukmeting bij gesedeerde fretten
DEC nummer: 2012.III.06.060

Het gebruik van een lage dosering aan kalmeringsmiddelen om bloeddrukmetingen uit te kunnen voeren bij fretten
Achtergrond: Bij verschillende ziektes (o.a. hart- en nierfalen) is het belangrijk om de bloeddruk te kunnen meten zodat de toestand van een patiënt (mens of dier) goed ingeschat kan worden en de behandeling geoptimaliseerd kan worden. Bij fretten kan bloeddrukmeting lastig zijn omdat het zeer beweeglijke dieren zijn. Het geven van een kalmeringsmiddel of gebruik van een dwanggreep kan hierbij uitkomst bieden. Het is echter niet bekend welke methode het beste is (d.w.z. tot herhaalbare en betrouwbare metingen leidt zonder de bloeddruk te beïnvloeden), dan wel hoeveel kalmeringsmiddel nodig is. Daarnaast is onbekend wat normaalwaarden zijn voor bloeddrukken bij een fretten.
Doel/hypothese: 1. Vaststellen van de beste methode om bloeddrukmetingen bij fretten uit te voeren zodat betrouwbare, herhaaldelijk metingen mogelijk zijn (zonder dat de bloeddruk beïnvloed wordt). De methodes die gebruikt worden zijn a) houden van een fretje bij het nekvel en b) gebruik van een minimale dosis aan kalmeringsmiddelen. 2. Vaststellen van normaalwaarden voor bloeddrukken bij de fret.
Globale aanpak vraagstelling: Het onderzoek bestaat uit 2 delen: 1) Een kleinschalige studie bij 10 fretten, waarin herhaaldelijk bloeddrukken worden gemeten volgens 5 verschillende protocollen (1 nekvel; 4 verschillende doseringen kalmeringsmiddel). Bij elk dier zullen alle 5 methodes worden getest, met 1 week tussentijd. Nadat hiermee is vastgesteld welke methode het beste is om bloeddrukmetingen bij een fret uit te voeren, kan deze methode in de praktijk worden toegepast om normaalwaarden voor bloeddrukken bij fretten te bepalen. Omdat bloeddruk beïnvloed wordt door diverse factoren in het lichaam levert het onderzoek de meest betrouwbare resultaten wanneer uitgevoerd in het doeldier (fret) zelf.

Titel studie: Invloed van M402 op gemcitabine therapie effect in genetisch gemodificeerde muizen die alvleeskliertumoren krijgen
DEC nummer: 2012.III.06.061

Het effect van een nieuw heparine derivaat (M402) op de groei van alvleesklier kanker
Achtergrond: Heparine staat bekend om zijn remmende werking op de bloedstolling maar het remt ook allerlei groeifactoren die tumorgroei kunnen stimuleren. M402 is een heparine derivaat wat wel de groeifactoren remt maar veel minder de bloedstolling, daardoor kunnen we veilig meer M402 geven en dus de groeifactoren beter remmen. Alvleesklierkanker is een therapie ongevoelige tumor en het is van groot belang om nieuwe therapieën te ontwikkelen. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat M402 in een muizenmodel voor alvleesklierkanker het effect van chemotherapie versterkt. In dit onderzoek testen we hoe M402 de behandeling met chemotherapie verbetert.
Doel/hypothese: We denken dat M402 de tumorcellen in de alvleeskliertumor gevoeliger maakt voor de effecten van chemotherapie door een werking te hebben op de invasieve cellen in de tumor. Door gebruik te maken van een pancreastumormodel waarin de tumorcellen fluorescent gelabeld zijn, is het mogelijk om beweging van de tumorcellen vast te leggen.
Globale aanpak vraagstelling: Om te onderzoeken wat het effect is van M402, met name bij de remming van invasie en de versterking van de werking van gemcitabine, zullen we muizen tot het eindpunt behandelen met gemcitabine of M402 of een combinatie van deze behandelingen. De inzet van muizen met fluorescente gelabelde pancreastumoren is hierbij noodzakelijk omdat het hierdoor mogelijk wordt om de cellen te isoleren en verplaatsing te volgen.

Titel studie: Recombinant humaan alkalische fosfatase
DEC nummer: 2012.III.06.062

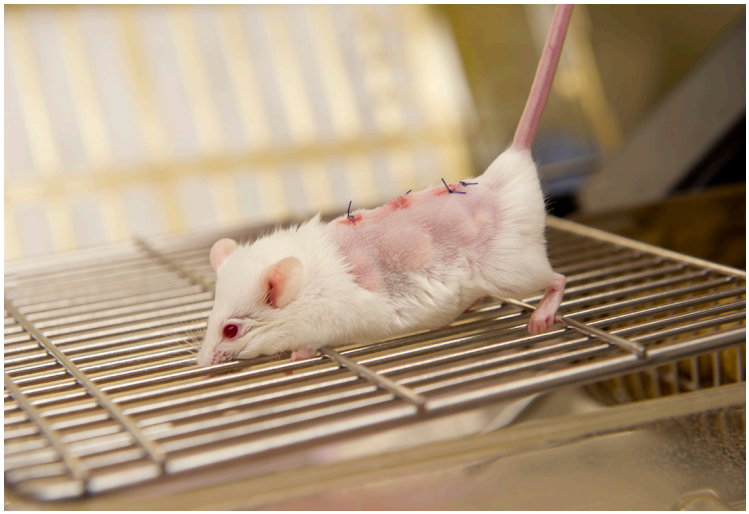
Therapeutische eiwitten
Achtergrond: Met koe-afkomstig alkalische fosfatase (een enzym dat o.a. in lever en bot voorkomt) zijn positieve resultaten verkregen in verschillende klinische studies. Een humane variant van alkalische fosfatase is nu in ontwikkeling om ook langdurige toepassing in de mens mogelijk te maken.
Doel/hypothese: Aantonen van veiligheid van dit humane product in muizen die vooraf tolerant gemaakt zijn voor dit humane eiwit.
Opzet van onderzoek: Om te onderzoeken of het middel meermalig ingespoten kan worden bij patiënten wordt nu eerst onderzocht of meermalige injecties in de muis geen toxische effecten veroorzaakt. Om immunologische reacties te voorkomen worden de muizen eerst getoleriseerd

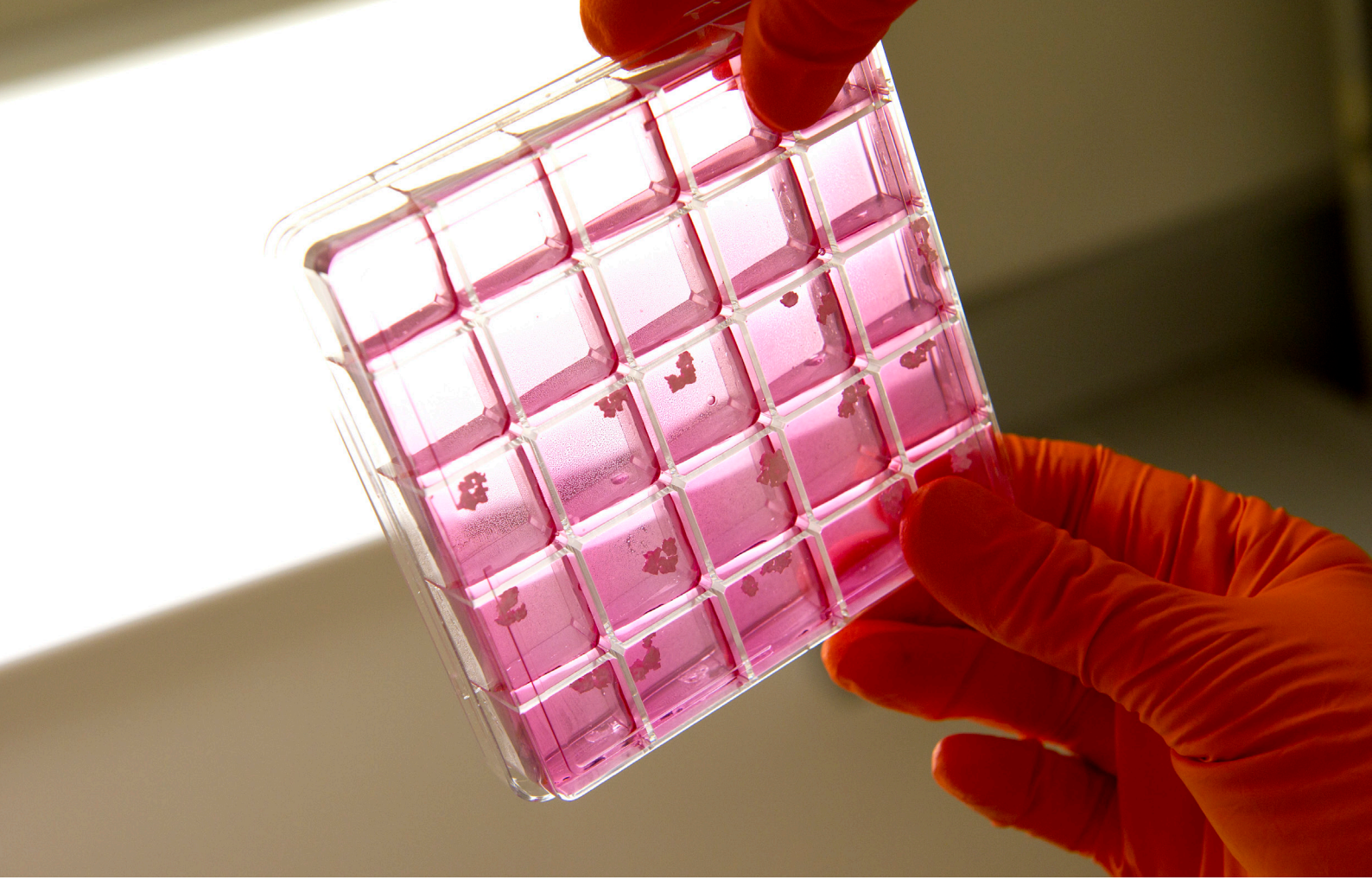
DEC nummer 2012.III.06.063: Vervallen

Titel studie: Genereren van muizen met gehumaniseerde scaffolds
DEC nummer: 2012.III.07.064

Karakterisatie van normale humane stamcellen en maligne stamcellen in leukemie en multipel myeloom met therapie ontwikkeling
Achtergrond: Experimenten die in de afgelopen jaren door ons zijn uitgevoerd hebben ons geleerd dat het mogelijk is om in (immuundeficiënte) muizen (op een onderhuidse locatie) een humane botomgeving te creëren. Dit biedt de mogelijkheid om daarin humane stamcellen te bestuderen. Deze stamcellen kunnen ofwel direct op deze plaats worden ingespoten of de stamcellen kunnen hun weg daar naar toe vinden, nadat ze intraveneus zijn ingespoten. Zowel normale stamcellen, maar ook leukemiecellen en multipel myeloom tumorcellen blijken zich in deze “omgeving” te kunnen vestigen en verder uit te kunnen groeien. Hierdoor kunnen we allerlei processen bestuderen m.b.t. de normale bloedcelproductie, de pathobiologie van leukemie en myeloom alsmede het preklinisch ontwikkelen van nieuwe vormen van chemo- en immunotherapie voor deze ziekten.

Uit de narcose bijkomende muis met onderhuids geplaatste scaffolds.





Hybride scaffolds, bestaande uit poreuze keramisch partikels van circa 4-5 mm waarop humane stromale (stam)cellen zijn uitgezaaid.

Doel/hypothese: Dit unieke gehumaniseerde muizenmodel biedt ons de mogelijkheid om meer inzicht te krijgen in groei en (dis-)regulatie van normale bloedcelproductie en groei van hematologische tumoren.
Globale aanpak vraagstelling: Aan het begin van het experiment worden er bij de muizen subcutaan hybride scaffolds geplaatst. Deze bestaan uit poreuze keramisch partikels van circa 4-5 mm waarop humane stromale (stam)cellen zijn uitgezaaid. Eenmaal in de muis zal er in deze scaffolds een laag humaan bot worden gevormd met daarop weer een laag humane stromale cellen. In het vervolg van de experimenten worden in de “gehumaniseerde” omgeving weer normale - of leukemie stamcellen gespoten (door de huid heen, tussen de partikels) waarna de uitgroei van deze cellen en de effecten van chemo- of immunotherapie worden bestudeerd.

Titel studie: Injection of BMP-7 in laboratory Beagle dogs with spontaneous early lumbar IVD degeneration.
DEC nummer: 2012.III.07.065

Injectie van BMP-7 in laboratorium Beagles met spontane vroege slijtage van de lumbale tussenwervelschijf (IVD)
Achtergrond: Uit onderzoek blijkt dat 80% van de mensen lage rugpijn ervaart in het leven. Ook bij specifieke hondenrassen komt lage rugpijn regelmatig voor. Tussenwervelschijfslijtage wordt als een van de meest voorkomende oorzaken hiervoor gezien. De huidige behandelmethoden, inclusief operatieve behandelingen, zijn gericht op het verlichten van pijn. Er is een sterke behoefte aan betere methoden. In het kader van 'Regeneratieve Geneeskunde' wordt gezocht naar een methode die de slijtage van de tussenwervelschijf kan stoppen of zelfs kan omdraaien. Gecontroleerde afgiftesystemen (hydrogels en microsferen), waaraan een medicijn gekoppeld kan worden, zijn ontwikkeld en deze zijn in een eerder experiment succesvol in de tussenwervelschijf aangebracht.
Doel/hypothese: Het doel van de huidige studie is om de optimale dosering van een specifiek eiwit met vernieuwende kwaliteiten (BMP-7), al dan niet gekoppeld aan een gecontroleerd afgiftesysteem, te bepalen en in de tussenwervelschijf aan te brengen met als doel het slijtageproces te stoppen of te herstellen.
Globale aanpak vraagstelling: Er zijn afgiftesystemen (hydrogels en microsferen) ontwikkeld welke medicijnen gecontroleerd af kunnen geven. In deze studie zullen verschillende doseringen van een eiwit (BMP-7), al dan niet gekoppeld aan een gecontroleerd afgiftesysteem, in tussenwervelschijven in het lendengebied van 7 Beagles worden geïnjecteerd. De injecties zullen via een chirurgische procedure worden toegediend. Om veranderingen in de tussenwervelschijf waar te nemen zal op meerdere tijdspunten een MRI worden uitgevoerd. Na euthanasie worden alle tussenwervelschijven voor weefsel- en celonderzoek, biochemische bepalingen en genetisch onderzoek verzameld. Deze data zullen worden gebruikt om de meest optimale dosering van het eiwit vast te stellen. N.a.v. de resultaten uit deze studie en de daarop volgende studie waarbij drie verschillende gecontroleerde afgiftesystemen worden gebonden met de optimale concentratie BMP-7 zal besloten kunnen worden deze middelen ook in veterinaire en humane patiënten te gaan testen.

Titel studie: Effect of high fat diet in combination with DDC (diethyl-1,4-dihydro-2,4,6-trimethyl-3,5-pyridine decarboxylate 0,1% wt/wt) on proliferation of stamcells in the mouse
DEC nummer: 2012.III.07.066

Effect van hoog vet dieet, DDC dieet en een combinatie van hoog vet en DDC dieet op lever stamcellen
Achtergrond: Eerdere experimenten toonden aan dat in controle muizen een sterke vermeerdering van lever stamcellen optreedt na het geven van speciaal voer. Een andere studie waarbij muizen een hoog vet dieet gevoerd kregen toonde een vergelijkbare vermeerdering van deze cellen. Omdat deze cellen als mogelijke bron voor het ontstaan van levertumoren genoemd worden en omdat deze cellen onder normale omstandigheden in slechts zeer lage hoeveelheden in een lever aanwezig zijn wordt in
deze pilot studie de functie van deze cellen d.m.v. lipodomics bestudeerd.
Doel/hypothese: Het geven van hoog vet en DDC voer zal vergelijkbare effecten hebben op de lever stamcel. Analyse van geïsoleerde stamcellen (3weken na toedienen van de verschillende voersoorten) zal inzicht geven in de functie van deze cellen.
Globale aanpak vraagstelling: muizen worden verdeeld over 4 groepen: 1) muizen krijgen DDC voer, 2) muizen krijgen DDC voer in combinatie met hoog vet, 3) muizen krijgen hoog vet voer, 4) muizen (nestgenoten) dienen als controle, deze krijgen normaal voer. Om het effect van DDC voer en hoog vet voer te bestuderen is het noodzakelijk muizen te gebruiken. In vitro studies (celkweek van een soort cellen of van cellijnen) missen de interactie tussen verschillende soorten levercellen en daarmee missen zij de metabole omzettingen die nodig zijn om vet af te breken en/of DDC te verwerken.

Titel studie: Effecten van medicijn-adduct vorming
DEC nummer: 2012.III.07.067

Medicijn-eiwit complex vorming in het ontstaan van medicijn overgevoeligheid
Achtergrond: Medicijnallergie is de belangrijkste oorzaak voor het mislukken van nieuw ontwikkelde medicijnen. Het wordt vaak in een laat stadium ontdekt (op het moment dat het al in de mens wordt gebruikt) en 5-20% van patiënten lijdt aan een vorm van medicijnallergie. Hoe deze ongewenste reacties op medicijnen ontstaan is grotendeels onbekend. Het medicijnallergie-onderzoek binnen ons instituut richt zich op het verkrijgen van meer kennis omtrent mechanismen betrokken bij het ontstaan van medicijnallergie, zodat betere voorspellende modellen te ontwikkelt kunnen worden. Medicijnen zijn kleine stoffen die niet zelfstandig door immuuncellen herkend kunnen worden, maar wel als ze een reactie aangaan met eiwitten (adductvorming).
Doel/hypothese: In deze experimenten wordt onderzocht of na orale blootstelling aan paracetamol een overgevoeligheidsreactie optreedt tegen een specifiek paracetamol-adduct. Om deze overgevoeligheidsreactie te testen werd tot nu toe gebruik gemaakt van een medicijn onafhankelijke signaal stof.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen zullen worden blootgesteld aan paracetamol en 1 tot 2 weken later zal een injectie plaatsvinden met het paracetamol-adduct om medicijn specifieke overgevoeligheid te meten. Met de verkregen kennis wordt ook getracht voorspellende modellen voor medicijnallergie te ontwikkelen.

Titel studie: Effect van chronische vitamine D overmaat op elleboogontwikkeling bij Labradors, een pilot studie
DEC nummer: 2012.III.07.068

Effect van chronische vitamine D overmaat op de elleboogontwikkeling bij Labradors, een pilot studie
Achtergrond: Het Los processus coronoideus (LPC) is de meest voorkomende aandoening van de voorpoten bij jonge honden van verschillende rassen, waaronder de Labrador. Deze aandoening wordt regelmatig waargenomen en leidt deze tot kreupelheid waarbij zelfs operatie niet altijd invaliditeit kan voorkomen. Uitgebreid genetisch onderzoek biedt te weinig aanknopingspunten om een DNA-test te ontwikkelen. Pathologisch onderzoek van pups met een LPC toont aan dat het beginstadium van het LPC wijst op een stoornis in het proces waarbij kraakbeen zich tot bot ontwikkelt. Een dergelijke stoornis in andere skeletdelen werd bij reuze rassen gezien indien er een chronisch verhoogde vitamine D inname plaatsvond. Deze chronisch verhoogde vitamine D wordt nu onderzocht bij een kleine groep honden om het effect ervan te bestuderen, waarna mogelijkerwijs onderzoek bij een grotere groep zal volgen.
Doel/hypothese: Het doel is om aan te tonen dat een hoog vitamine D gehalte schadelijk is voor de skeletontwikkeling bij middelgrote honden in het bijzonder het ellebooggewricht, hetgeen zal leiden tot het optimaliseren van de voedersamenstelling voor jonge snelgroeiende honden.
Globale aanpak vraagstelling: In een nest Labradors zullen pups óf gevoerd worden met commercieel voer óf met dit voer waaraan extra vitamine D wordt toegediend. De pups zullen één maal per twee weken onder sedatie radiologisch worden onderzocht en zal er bloedonderzoek plaatsvinden. Aan het einde van de onderzoeksperiode zal uitgebreid pathologisch onderzoek worden verricht aan de ellebooggewrichten en rib-groeischijven.

Titel studie: Mamma tumor vorming in het Wcre;P53F muismodel
DEC nummer: 2012.III.07.069

Op weg naar een behandeling op maat voor invasief borstkanker
Achtergrond: Dit muismodel zal hopelijk bijdragen aan het ontwikkelen van nieuwe behandelmethoden. Deze muizen ontwikkelen een niet kwaadaardige vorm van borstkanker, welke grote gelijkenis vertoont met de humane situatie. Dit

geeft ons de kans om een menselijke vorm van borstkanker nauwgezet te bestuderen in de muis.
Doel/hypothese: Het bestuderen van genen die een bijdrage leveren aan borstkanker door het genereren en bestuderen van het muismodel voor borstkanker dat de basis vormt van studies naar het ontstaan en de progressie van borstkanker, alsmede het verkrijgen van tumormateriaal voor opvolgende transplantatie experimenten om zo het kankerproces verder te kunnen onderzoeken.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen zullen vanaf een leeftijd van 200-400 dagen spontaan borsttumoren vormen. De muizen worden (vanaf een leeftijd van 200 dagen) wekelijks gecontroleerd op aanwezigheid van tumoren. Indien aanwezig, worden de tumoren wekelijks gemeten m.b.v. een schuifmaat om de grootte van de tumor in de gaten te houden, aangezien de tumor max. 1000 mm3 mag worden. Indien de tumor de maximale grootte heeft, worden de dieren uit het experiment genomen en wordt het tumormateriaal verzameld en opgeslagen om later te dienen als uitgangsmateriaal bij verdere muisstudies waarin we borstkanker proberen te begrijpen en te behandelen.

Titel studie: In vitro effecten van medicijnen
DEC nummer: 2012.III.07.070

Effecten van medicijnen op immuunrespons en levensvatbaarheid van verschillende celtypen in de lever
Achtergrond: Medicijn geïnduceerde allergieën zijn moeilijk te voorspellen maar vormen wel een groot probleem: 5 tot 20% van de medicijn gebruikers lijdt aan een vorm van medicijnallergie met matige tot zeer ernstige gevolgen. Een van de hypotheses omtrent het ontstaan van deze allergieën is dat als medicijnen celschade veroorzaken, dit zou kunnen leiden tot versterkte immuunresponsen. Tevens zouden medicijnen het type immuunrespons kunnen beïnvloeden waardoor een 'verkeerde' reactie op lichaamseigen of andere ongevaarlijke structuren zou kunnen plaatsvinden.
Doel/hypothese: In deze experimenten wordt gekeken naar het effect van medicijnen op immuunparameters van geïsoleerde levercellen in kweeksystemen. Tevens wordt onderzocht of bepaalde cellen van het immuunsysteem (bijvoorbeeld T helper cellen of antigeen presenterende cellen) gevoeliger zijn voor celschade en celdood geïnduceerd door medicijnen.
Globale aanpak vraagstelling: Cellen worden uit de milt en de lever van muizen geïsoleerd en blootgesteld aan medicijnen in kweeksystemen. Deze organen worden gebruikt omdat hier veel verschillende immuuncellen voorkomen. De unieke samenstelling kan niet nagebootst worden met cellijnen. De lever is daarnaast het belangrijkste orgaan voor de omzetting van medicijnen in reactieve metabolieten. Na blootstelling wordt met behulp van chemische en celbiologische methodes het effect op celdood vastgesteld en worden uitgescheiden (immuun) eiwitten geanalyseerd.

Titel studie: Effectiviteit van Docetaxel-beladen micellen in combinatie met gemcitabine in genetisch gemodificeerde muizen met alvleeskliertumoren
DEC nummer: 2012.III.07.071

Effectiviteit van Docetaxel bevattende bolletjes in muizen na eenmalige of herhaalde toediening
Achtergrond: Vaste tumoren worden bestreden met antikankermiddelen die zware bijwerkingen in gezond weefsel veroorzaken. Door het insluiten van deze middelen in nanodeeltjes worden de toxische effecten in gezond weefsel voorkomen en wordt de tumorbestrijding verbeterd. Het is belangrijk om het effect van dit soort nieuwe behandelstrategieën te testen in modellen die de menselijke situatie benaderen. Wij gaan dit nu doen in een muizenmodel, wat de ziekte alvleesklierkanker goed nabootst in muizen. Op deze manier kunnen we goed kijken naar de effecten van verdeling van het geneesmiddel.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het bestuderen van het verschil in effect tussen geneesmiddelen toedienen via nanodeeltjes versus de reguliere toediening in een muizenmodel voor alvleesklierkanker.

Globale aanpak vraagstelling: Het antikankermiddel Docetaxel zal via verschillende manieren in de bolletjes worden ingesloten en worden toegediend aan muizen. Aansluitend zal de bloedspiegel en de weefselaccumulatie worden bepaald. Daarnaast zullen we gaan kijken naar de effecten die Docetaxel in nanodeeltjes versus de gewone toediening van Docetaxel hebben op de tumor, de karakteristieken en of er een verschil is in het effect van de behandeling op tumorgroei en overleving. Dit onderzoek kan alleen bij proefdieren plaatsvinden omdat de verdeling van het geneesmiddel via het bloed en in de tumor niet op een andere manier kan worden onderzocht.

Titel studie: De invloed van tumor geassocieerde macrofagen en neutrofielen op de tumorgroei in genetisch gemodificeerde muizen die pancreas tumoren krijgen
DEC nummer: 2012.III.07.072

De invloed van afweercellen op de ontwikkeling van alvleeskliertumoren
Achtergrond: Cellen die betrokken zijn bij de afweer van mensen bij ontstekingen kunnen naar tumoren toegetrokken worden. Deze cellen spelen een rol bij de groei van de tumoren en hebben hierdoor een verminderde overleving tot gevolg. Voorheen werd gedacht dat deze afweercellen, die belangrijk zijn voor de groei van de tumor, voortkomen uit cellen in het beenmerg, maar er is gebleken dat de milt ook een reservoir kan vormen van deze
cellen. De cellen kunnen vanuit de milt naar de tumor getransporteerd worden waar ze ervoor kunnen zorgen dat afweercellen zich vermenigvuldigen vooral in het bindweefsel van de tumor. Pancreas tumoren kenmerken zich door de aanwezigheid van grote hoeveelheden bindweefsel. Eerder is gebleken dat verwijdering van de milt een vermindering van afweercellen in de tumor teweeg bracht, waardoor de tumor minder groot werd. Tevens is gebleken dat vermindering van bindweefsel in pancreas tumoren kan bedragen aan verbetering van de therapie.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om te onderzoeken wat de invloed van cellen, betrokken bij afweer, is op de groei van alvleeskliertumoren.
Globale aanpak vraagstelling: Om te onderzoeken wat de invloed is van de tumor geassocieerde macrofagen en neutrofielen op tumorgroei zijn heel veel processen betrokken. In pancreaskanker is stroma betrokken bij deze processen. Dit is niet na te bootsen in vitro.

Vergadering 29 augustus 2012

Titel studie: Bloeddonorprogramma voor feline patiënten
DEC nummer: 2012.III.08.073

Bloeddonatieprogramma voor katten
Achtergrond: Op de Universiteitskliniek voor Gezelschapsdieren wordt de transfusie van bloed en bloedproducten toegepast als onderdeel van de topklinische zorg. Omdat er geen interne donorpopulatie is wordt gebruik gemaakt van een externe bloedbank. Technische aspecten van bloeddonatie beperken echter soms de inzet van bloedtransfusies in de patiëntenzorg en voedt de noodzaak voor een aanvullend intern bloeddonorprogramma. Er is uitgebreide expertise intern aanwezig en de belasting voor de donor wordt hierdoor tot een minimum beperkt. Hiermee is de belasting voor het proefdier als direct gevolg van de donaties beperkt.
Doel/hypothese: Het verkrijgen van volbloed (en bloedproducten) voor de behandeling van katten met verschillende bloedaandoeningen op de Universiteitskliniek voor Gezelschapsdieren (UKG).
Globale aanpak vraagstelling: Omdat het doel het verkrijgen van volbloed is kan alleen van dieren gebruik worden gemaakt. Van de 6 donorkatten zal elke 1,5-3 mnd. 50 ml bloed worden afgenomen (gewenste tijdsinterval tussen donaties is 8 weken). De behoefte aan bloeddonaties betreft op jaarbasis ongeveer 20-30 donaties (Gebaseerd op de administratie van het huidige bloedtransfusieprogramma.) Eén kat kan gemiddeld 4-6 donaties per jaar geven. Om het gewenst aantal donaties te krijgen zijn dus 6 katten (6 x 4-6 = 24-36 donaties) nodig. De literatuur geeft aan dat de donatie voor proefkatten een routine is die een balans vormt tussen de welzijnsbelasting van het dier en de noodzaak om voldoende bloed te verkrijgen. Voorafgaande aan een bloeddonatie wordt de kat lichamelijk onderzocht en gekeken of de kat gezond is en geen bloedarmoede heeft. Als dit goed is wordt de kat gefixeerd en wordt via een halsader bloed afgenomen in een bloedzak met naald of 60 ml spuit met naald. In de zak of spuit zit citraat als ontstollingsmiddel. Het afgenomen bloed wordt verwerkt en in de koelkast/vriezer bewaard of direct aan de recipiënt (= de patiënt die behoeft heeft aan bloed) toegediend. De donorkat wordt ter observatie een dag gecontroleerd op eventuele neveneffecten van de donatie (bijv. nabloeden van de insteekopening) voordat hij wordt teruggeplaatst.

Titel studie: Fertile: An investigation of the effect of a combined mastitis therapy with Metacam® and Ubrolexin® on dairy cows' reproductive performance
DEC nummer: 2012.III.08.074

Onderzoek naar het effect van een gecombineerde behandeling van uierontsteking bij melkkoeien met Metacam (meloxicam) en Ubrolexin op de vruchtbaarheid
Achtergrond: Verschillende studies tonen aan dat uierontsteking negatieve effecten heeft op de vruchtbaarheid. Recent onderzoek heeft aangetoond dat de behandeling van uierontsteking met een antibiotica gecombineerd met een ontstekingsremmer (NSAID) resulteerde in een lager celgetal en een verminderde afvoer, wat de vruchtbaarheid bevordert (McDougall 2009) t.o.v. behandeling met alleen antibiotica. In deze studie werd niet specifiek naar vruchtbaarheidskenmerken gekeken. De opzet van de huidige studie is zodanig dat het effect op vruchtbaarheid gemeten wordt. Koeien, gehouden op (geselecteerde) melkveebedrijven, die op een natuurlijke manier uierontsteking krijgen worden in de uier met antibiotica behandeld, daarnaast krijgt de helft van de dieren een ontstekingsremmer (meloxicam) en de andere helft van de dieren een placebo injectie. Melkmonsters voor behandeling en op dag 14 en 21 worden genomen voor bacteriologisch onderzoek. Onderzoek op dracht vindt plaats zoals gebruikelijk op het melkveebedrijf. De veehouder wordt gevraagd gegevens met betrekking tot andere ziekten, afvoer en reden van afvoer te registreren. De verkregen data wordt

gebruikt voor analyse.
Doel/hypothese: Het effect van de aanvullende behandeling met een ontstekingsremmer (meloxicam), bij milde/ middelmatige mastitis met antibiotica in de uier ,op de vruchtbaarheid te evalueren (onder veldomstandigheden).
Globale aanpak vraagstelling: Het gebruik van een ontstekingsremmer/pijnstiller per injectie, ook bij milde/middelmatige uierontsteking wordt meer gebruikelijk. De placebo dieren krijgen deze ontstekingsremmer/pijnstiller niet, maar zij krijgen wel een extra injectie (placebo) toegediend. Om het effect van de ontstekingsremmer te meten, is er wetenschappelijk gezien, de voorkeur om te vergelijken met een placebo groep, waarvan zowel de dierenarts(onderzoeker) als de veehouder (eigenaar van de koe) niet weten, welke dieren er met de ontstekingsremmer behandeld zijn, om de resultaten niet te kunnen beïnvloeden.

Titel studie: The inflammatory response following RFA does not stimulate cell tumor outgrowth
DEC nummer: 2012.III.08.075

RFA en de influx van inflammatoire cellen
Achtergrond: Na hitte vernietiging(RFA) van dikke darm leveruitzaaiingen komt helaas de ziekte toch vaak terug, met name rond het weggebrande gebied. Uit ons eerdere onderzoek blijkt dat gebrek aan zuurstof de overgebleven levende kankercellen agressiever laat uitgroeien. Andere onderzoeksgroepen menen dat deze versnelde heruitgroei ook komt door de ontstekingsreactie die ontstaat na RFA. In eerdere proeven hebben we aangetoond dat er geen korte termijn effect (24 uur na RFA) van de ontstekingscellen is op de heruitgroei van overgebleven kankercellen.
Doel/hypothese: In deze voorgestelde proef willen we de lange termijn effecten van het ontbreken van ontstekingscellen (door radiatie van het beenmerg) op tumor uitgroei na RFA bestuderen. Dit is klinisch gezien een veel relevantere uitkomstmaat en zal het voorgaande werk sterk in waarde doen toenemen.
Globale aanpak vraagstelling: De helft van de muizen zal bestraald worden om het immuunsysteem uit te schakelen (dat zal voor ongeveer 14 dagen het geval zijn, in ieder geval ruim binnen de termijn van de proef (10 dagen). Daarna zullen in de milt tumorcellen ingespoten worden die vervolgens kleine uitzaaiingen vormen in de lever. 3 Dagen na tumorcelinjectie zal de lever behandeld worden middels RFA. 7 Dagen na RFA (dag 10 na inspuiten/bestraling) zullen de muizen getermineerd worden en zal de lever onderzocht worden op tumor uitgroei. Tumor uitgroei rond het door RFA weggebrande weefsel zal vergeleken worden met niet behandeld lever weefsel. Wij vermoeden dat het ontbreken van immuuncellen geen invloed zal hebben op de versnelde heruitgroei van tumorcellen rond het weggebrande gebied.

Titel studie: Verfijning van vaststellen KP10 doseringen voor kisspeptin stimulatietesten bij de hond
DEC nummer: 2012.III.08.076

Kisspeptin: de poortwachter voor de hormonale regulatie van de voortplanting. Een target voor niet-chirurgische neutralisatie bij de hond?
Achtergrond: Mensen en muizen waarbij de belangrijkste poortwachter van de voortplanting “kisspeptin” onwerkzaam is, komen niet in de puberteit en zijn steriel. Over de rol van kisspeptin bij de hond is echter nog niets bekend. Na het toedienen van kisspeptin, wordt een toename aan regulerende geslachtshormonen (LH, FSH en Oestradiol) in het bloed gemeten. Om de rol van kisspeptin bij de hond beter in kaart te kunnen brengen, is het van belang om te weten wat de laagste dosering kisspeptin is die nog een stimulerend effect heeft op de regulerende geslachtshormonen. Uit een eerdere studie blijkt dat er geen verschil in respons is tussen de verschillende doseringen die zijn gebruikt (1, 5, 10, 30, 50 en 100 microgram/kg). Bij deze vervolgaanvraag willen we lager gaan dan 1 microgram/kg om te kijken bij welke dosering nog een significante respons te zien is.
Doel/hypothese: Met behulp van stimulatietesten kan het effect van kisspeptin op geslachtshormonen worden bepaald. Deze aanvullende studie dient om de bepaling van de dosering kisspeptin te verfijnen.

Globale aanpak vraagstelling: Bij 6 Beagle teefjes, die hormonaal in een rustfase (anoestrus) zijn, wordt er wekelijks een kisspeptin stimulatietest gedaan (in totaal 4 keer, iedere keer met een andere dosering: 0.05 0.1 0.5 en 1ug/kg). Per stimulatietest wordt er 4 ml bloed afgenomen op de volgende tijdstippen: -40, 0, 10, 20 30, 40, 60, 90, 120 min. voor de bepaling van de diverse hormonen (op T=0 wordt kisspeptin toegediend). Aan de hand van dit onderzoek wordt de optimale kisspeptin dosering verfijnd. Deze gegevens dienen voor de vervolgstudie om tijdens meerdere fases van de cyclus en de anoestrus de rol van kisspeptin in kaart te brengen, niet alleen door het toedienen van kisspeptin, maar ook door kisspeptin functie te blokkeren met een zogenaamde antagonist. Tijdens een continue toediening van zo'n antagonist zal een kisspeptin stimulatietest worden uitgevoerd. Een antagonist zal niet functioneren als een overmaat aan kisspeptin is toegediend. Het is daarom belangrijk om de minimale dosering kisspeptin, die nog wel een goede LH respons laat zien, te bepalen.

Titel studie: NIRS in thoracoscopic procedures
DEC nummer: 2012.III.08.077

Hersendoorbloeding bij kijkoperaties in de borstholte
Achtergrond: Minimaal invasieve chirurgie neemt een steeds belangrijkere plaats in in de gezondheidszorg, met name omdat er postoperatief minder pijn is, de littekens kleiner zijn, er minder risico op wondinfectie is, zich ook binnenin het lichaam minder littekens vormen en het risico op complicaties kleiner is. Pasgeboren kinderen zijn extra kwetsbaar omdat hun ontwikkeling nog niet afgerond is. Kijkoperaties in bijvoorbeeld de borstholte moeten veilig kunnen worden uitgevoerd zonder risico voor een tekort aan zuurstof in de hersenen. In één bepaalde studie wordt gesuggereerd dat kijkoperaties in de borst een negatief effect zou kunnen hebben op de zuurstofvoorziening van de hersenen, en dat zou natuurlijk zeer ongewenst zijn.
Doel/hypothese: Aantonen dat met lage drukken CO2 in de borstholte veilig operaties kunnen worden uitgevoerd zonder risico op verminderde hersendoorbloeding.
Globale aanpak vraagstelling: Vergelijken van twee groepen van 5 proefdieren (jonge biggen) waarbij gedurende een uur de borstholte wordt ingespoten met koolzuurgas, een onschuldig gas dat in de kijkoperatie chirurgie gebruikt wordt om borst en buikholte op te blazen zodat er ruimte en daarmee zicht wordt verkregen op het te opereren gebied. Dit gebeurt met drukken van resp. 5 en 10 mmHg, waarbij gedurende de gehele procedure de hersendoorbloeding wordt gemeten met behulp van NIRS (Near-infrared spectrometrie), een apparaat dat de hersendoorbloeding kan meten. Het is niet verantwoord dit proefondervindelijk bij zuigelingen uit te proberen.

Titel studie: *Effect van individuele peptides met/zonder prebiotica als preventieve therapie voor koemelkallergie *Effect van PUFAs op immunotherapie met peptides voor koemelkallergie
DEC nummer: 2012.III.08.078

Therapie met kleine eiwitfragmenten voor koemelkallergie
Achtergrond: Eerdere studies hebben laten zien dat preventieve (voordat de dieren allergische worden) en curatieve (als de dieren al allergisch zijn) behandeling met kleine eiwitfragmenten in staat is om de allergische reactie tegen koemelk te verminderen. Voor deze studies werden mixen van verschillende fragmenten gebruikt. In combinatie met een prebiotisch dieet werd het effect van een van de mixen verstrekt. Andere studies hebben aangetoond dat behandeling met meervoudig onverzadigde vetzuren leidt tot een verhoging van een subtype immuuncellen in de milt en de darmen. Deze immuuncellen kunnen immuunreacties remmen en waarschijnlijk ook de allergische respons.
Doel/hypothese: Het doel van deze studies is om te onderzoeken of individuele eiwitfragmenten met en zonder prebiotisch dieet in staat zijn om de allergische symptomen tegen koemelk te verminderen en om te bepalen of meervoudig onverzadigde vetzuren in het dieet het effect van de eiwitfragmenten kan versterken.

Globale aanpak vraagstelling: De individuele fragmenten worden in het preventieve model getest. Hiervoor worden de dieren eerst met de fragmenten behandeld en daarna allergisch gemaakt voor koemelk. Tijdens de behandelingsperiode staan deze dieren op controle of een prebiotisch dieet. Het dieet met meervoudige onverzadigde vetzuren wordt getest in het curatieve model, waarvoor de dieren eerst allergisch gemaakt worden voor koemelk en vervolgens behandeld worden met peptides. Tijdens de behandeling staan die dieren op controle dieet of het vetzuur dieet. Omdat koemelkallergie een complexe aandoening is waarin veel verschillende weefsels en cellen een rol spelen hebben we hiervoor het intacte dier (muis) nodig. Daarnaast willen we weefsels/cellen verder onderzoeken wat onmogelijk is in de mens.

Titel studie: Spatiotemporal control of drug release from ultrasound sensitive drug delivery systems using MRguidedHIFU
DEC nummer: 2012.III.08.079

Het lokaal vrijzetten van chemotherapie uit medicijn afgifte systemen door middel van ultrasound
Achtergrond: Gefocuseerd ultrasound kan gebruikt worden voor het lokaal vrijzetten van chemotherapie uit medicijn afgifte systemen door middel van het verhogen van de temperaturen, het verlagen van de pH of door mechanische krachten. Door de lokale vrij zetting van het medicijn in de tumor wordt hier de concentratie van het medicijn verhoogd hetgeen de behandeling verbetert, tegelijkertijd vermindert deze methode ook ongunstige neveneffecten van de behandeling.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het uitzoeken welke methode (temperatuursverandering, pH-verandering of mechanische kracht) het beste effect oplevert.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie gaan we tumoren in muizen behandelen met elk van de drie methodes en analyseren we vervolgens welke methode leidt tot de hoogste medicijn concentratie in de tumor. Het is noodzakelijk deze methodes in proefdieren te testen omdat de fysiologische reactie van de tumor tijdens de behandeling van groot belang is voor de werking van de methodes.

Titel studie: Two-step delivery approach for chemotherapy using microbubbles and thermosensitive liposomes loaded with cisplatin
DEC nummer: 2012.III.08.080

Tweestaps methode voor lokale geneesmiddel afgifte in tumoren, met behulp van thermosensitieve liposomen, ultrageluid, en microbubbels
Achtergrond: Voor effectieve chemotherapie voor de behandeling van kanker is het van belang dat de werkzame stof doordringt op de plek waar hij zijn werk moet doen. Ten tweede is het wenselijk dat de werkzame stof voornamelijk in de tumor terecht komt en zich niet verspreid in het hele lichaam. We willen hier een nieuwe veelbelovende manier van toediening evalueren, een tweestaps benadering. Ten eerste wordt het geneesmiddel, in dit geval cisplatine, verpakt in temperatuur gevoelige liposomen (vetbolletjes), die bij verwarming van de tumor het geneesmiddel lokaal afgeven. Ten tweede wordt met ultrageluid en microbubbels de tumor beter doordringbaar gemaakt voor het geneesmiddel.
Hoewel het principe van tweestaps lokale afgifte is aangetoond, zijn er nog vele open vragen over de toename van de tumor dosis, en hoe de toediening optimaal wordt uitgevoerd. Tenslotte is er de effectiviteit tegen tumorgroei, dit is nog niet eerder onderzocht.
Doel/hypothese: (1) Kan de tumor dosis van cisplatine ten opzichte van de omgeving/controle tumor verbetert worden door tweestaps afgifte protocollen met lokale verwarming en ultrageluid en microbubbels? (2) Levert herhaalde tweestaps toediening een verdere verbetering van de tumor dosis. (3) Levert dit vervolgens een verbeterde anti tumor effectiviteit van cisplatine?

Globale aanpak vraagstelling: De inzet van proefdieren is noodzakelijk om een realistisch beeld te krijgen van de haalbaarheid van de tweestaps methode. In het bijzonder studie van verspreiding op weefsel en orgaanniveau en anti tumor effectiviteit maken dierproeven onontkoombaar. Ten eerste wordt met behulp van fluorescente stoffen, die een model zijn voor cisplatine, gekeken waar deze stoffen terechtkomen op weefsel en orgaanniveau. Daarna zullen in een verder experiment de liposomen geladen worden met cisplatine en worden de weefselconcentraties bepaald. Tenslotte zal gekeken worden naar de anti tumor effectiviteit van de toediening van cisplatine met de twee staps methode.

Titel studie: Monitoring of availability and release for ultrasound-triggered local drug delivery using nanocarriers containing MRI contrast agents: a C6-glioma tumor model pilot study
DEC nummer: 2012.III.08.081

Beeld gestuurde medicijn afgifte door middel van ultrageluid
Achtergrond: Een van de huidige beperkingen van chemotherapie voor de behandeling van kanker zijn de bijwerkingen. De werkzame stof kan in het hele lichaam terecht komen, en dat beperkt de dosis die kan worden toegediend om de tumor te vernietigen. Het is ook mogelijk het geneesmiddel in te pakken en het plaatselijk vrij te maken in de tumor. Een veelbelovend concept zijn vetbolletjes die stabiel zijn bij lichaamstemperatuur, maar boven de 42°C het geneesmiddel vrijlaten. Daarnaast bestaan er gasbellen met een schil die onder invloed van drukgolven hun inhoud vrijgeven. High intensity focused ultrasound (HIFU) zal hier een sleutelrol spelen: de ultrasone geluidsgolven kunnen gebruikt worden om het weefsel in het lichaam van buitenaf te verwarmen, en zo de vetbolletjes het middel te laten afgeven. In combinatie met de gasbellen kan HIFU de drukgolf genereren die tot plaatselijke afgifte leidt. Op deze manieren kan de hoeveelheid werkzame stof in de tumor verhoogd worden, terwijl de hoeveelheid in de rest van het lichaam, en daarmee de bijwerkingen, niet toenemen. Voor beide methoden is het wenselijk te weten of de verpakkingen met geneesmiddel in de tumor aanwezig zijn wanneer de afgifte getriggerd wordt, en te kunnen zien dat afgifte plaatsvindt. Daarvoor willen we MRI gebruiken: met minuscule ijzerdeeltjes en gadolinium, een MR contrast middel, kunnen de vetbolletjes en gasbellen zichtbaar worden gemaakt. Bovendien hebben we in een reageerbuis aangetoond dat er een signaalverandering optreedt wanneer de lading van het vetbolletje of gasbel wordt vrijgegeven.
Doel/hypothese: We gaan uit van drie modelsystemen, vetbolletjes met ijzeroxide, vetbolletjes met Gadolinium, gasbelletjes met ijzeroxide in de schil. Hiervoor gaan we onderzoeken of het mogelijk is om aanwezigheid van de “verpakking” waar te nemen op MRI. Daarnaast, na gebruik van warmte of drukgolven om de vrijgave te initiëren, zullen we kijken of we de vrijgave van de lading met MRI kunnen vastleggen.
Globale aanpak vraagstelling: De inzet van proefdieren is noodzakelijk omdat informatie over de haalbaarheid van deze visualisatie technieken in de fysiologische situatie (in levend weefsel, met inhomogene verdeling van preparaten in vasculatuur) alleen te verkrijgen is via een proefdierstudie. In deze studie worden twee C6 tumoren in de achterpoten van een rat geplaatst. Na toediening van de preparaten wordt een van de tumoren verwarmd in een water bad of blootgesteld aan ultrasone geluidsgolven. De veranderingen van het MRI signaal zullen in real-time worden geregistreerd met hiervoor geoptimaliseerde sequenties.

Titel studie: AhR- dependent effects of dioxin like compounds on the hypothalamus-pituitary-gonadal (HPG) axis – in vitro primary cultures
DEC nummer: 2012.III.08.082

Het effect van dioxine en dioxine-achtige stoffen op het reproductie systeem van de vrouw
Achtergrond: Dioxines zijn milieuvervuilende stoffen, ze worden teruggevonden in de dampkring, de bodem en in water. Ze worden gevormd als bijproduct tijdens verschillende industriële processen en komen hierna in het milieu terecht. Wanneer ze eenmaal in de voedselketen terechtkomen is het zeer moeilijk om ze hieruit te verwijderen, omdat deze

stoffen slecht afbreken en zich ophopen in vetweefsel. Dioxines zijn één van de meest toxische stoffen die het normaal functioneren van het lichaam beïnvloeden (verstoring de normale werking van vele organen). Hierbij worden ook de organen die betrokken zijn bij de reproductie verstoord, waardoor verminderde vruchtbaarheid in zowel vrouwen als mannen kan ontstaan.
Doel/hypothese: Deze studie is opgezet om de interacties van dioxines op de reproductie organen (hypothalamus, hypofyse en ovaria oftewel HPG as) te onderzoeken.
Globale aanpak vraagstelling: Mensen worden constant aan dioxines blootgesteld. Het is bekend dat dioxines de reproductie bij mensen verstoren. Toch weten we niet precies de achterliggende mechanismen, omdat hormoonverstoring door dioxines over de gehele HPG as kan optreden. Daarom gaan we dit in vitro bestuderen. Daartoe gaan we in vitro cellen blootstellen uit de hypothalamus, hypofyse en ovaria. Om het systeem zo relevant/voorspelbaar mogelijk te maken willen we primaire cellen gebruiken. Doordat er geen blootstelling van de dieren plaatsvindt, is het ongerief minimaal. Verder worden de dieren, door het gebruik van meerdere weefsels, maximaal benut.

Titel studie: Pilot study: E2F7/8 function is required for survival and tissue homestasis in mice
DEC nummer: 2012.III.08.083

E2F7 en E2F8 zijn onmisbare eiwitten voor de normale groei en homeostase van weefsels in de muis
Achtergrond: Van een aantal genen is aangetoond dat zij een belangrijke rol spelen bij de embryonale ontwikkeling. Muizen waarin deze genen zijn uitgeschakeld ontwikkelen niet verder dan dag 11.5; embryo's sterven. Daardoor is het niet mogelijk de postnatale effecten van deze genen te bepalen. Door nu gebruik te maken van een system waarbij deze genen door middel van een chemische stof – op een door de onderzoeker gekozen tijdstip – uit te schakelen zal het toch mogelijk zijn deze genen in de muis te bestuderen.
Doel/hypothese: Genen spelen een belangrijke rol in normale orgaanontwikkeling en handhaving van weefsels, bij het ontbreken van deze genen wordt orgaan- en weefselontwikkeling belemmerd. Doel: Bestuderen welke organen gevoelig zijn. Hypothese: Orgaansystemen die een hoge celdeling hebben zullen beïnvloed zijn – daar zullen tumoren gevormd kunnen worden.
Globale aanpak vraagstelling: Wetenschappelijk belang: Vorming van organen en vorming van kanker is nauw verwant. Met deze studie wordt onderzocht welke organen gevoelig zijn voor het ontbreken van enkele belangrijke genen. Hiermee kan inzicht gekregen worden in de mechanismen die van belang zijn bij orgaanontwikkeling en -handhaving en (mogelijk) bij de ontwikkeling van kanker.
Maatschappelijk belang: Kennis van processen die de ontwikkeling en handhaving van organen beïnvloeden is belangrijk. Dit is nodig om modellen te ontwikkelen die gebruikt kunnen worden om ziekten die na de geboorte ontstaan te kunnen bestuderen. Ook ontwikkeling van kanker kan hiermee bestudeerd worden en kan leiden tot nieuwe behandelmethoden.

Titel studie: Follow up study to ensure experimental settings are optimal for the development of OC in pigs
DEC nummer: 2012.III.08.084

Follow up experiment om optimale experimentele settings voor de ontwikkeling van OC in varkens vast te stellen
Achtergrond: Kreupelheid heeft een ernstige impact op de welzijnsstatus van varkens in de varkensindustrie en zorgt voor ongerief bij zowel mestvarkens als fokzeugen. Verschillende onderzoeken wijzen osteochondrose aan als de belangrijkste oorzaak van pootproblemen bij varkens. Het is een proces met meerdere oorzaken dat de natuurlijke ontwikkeling en verbening van het kraakbeen tijdens de groei aantast. De kennis van de primaire biologische processen en de tijdstippen waarop deze processen plaatsvinden is nog niet volledig.

Doel/hypothese: OC is een complexe aandoening (meerdere oorzaken) en zoals we in ons vorige pilot-onderzoek gezien hebben is het niet vanzelfsprekend dat varkens OC ontwikkelen. Het doel van dit experiment is daarom om de meest optimale omstandigheden voor het ontstaan van OC binnen onze onderzoeksfaciliteiten vast te stellen. Daarnaast worden varkens met veel aanleg voor het ontwikkelen van OC geselecteerd. Op deze manier willen we een duidelijker manifestatie van OC in onze varkens bereiken en vaststellen of de ontwikkeling van OC in onze populatie qua tijdslijn gelijk loopt met de ontwikkeling zoals die in de literatuur beschreven wordt.
Globale aanpak vraagstelling: Om de ontwikkeling van OC in onze varkens te bevestigen zullen op 3 verschillende momenten (8,11 en 14 weken leeftijd) 10 varkens geeuthanaseerd worden zodat de gewrichten zowel macroscopisch als microscopisch beoordeeld kunnen worden. De microscopische beoordeling is op dit moment de “gouden standaard” voor het vaststellen en classificeren van OC. De groep van 10 varkens die als laatste geeuthanaseerd worden zullen longitudinaal gevolgd worden. Van deze dieren zullen tijdens het leven footscan analyses gedaan worden. Op deze manier kunnen we data verzamelen om de effectiviteit van deze techniek vast te stellen. Daarnaast geven deze data inzicht in de ontwikkeling van kreupelheid in relatie met de tijdslijn van OC ontwikkeling. De tijdslijn en tijdstippen zijn gekozen om de hypothetische ontwikkeling van OC te kunnen reproduceren.

Titel studie: Survival van muizen die pancreas tumoren krijgen
DEC nummer: 2012.III.08.085

Het effect van een nieuw heparine derivaat (M402) op de groei van alvleesklier kanker
Achtergrond: Heparine staat bekend om zijn remmende werking op de bloedstolling maar het remt ook allerlei groeifactoren die tumorgroei kunnen stimuleren. M402 is een heparine derivaat wat wel de groeifactoren remt maar veel minder de bloedstolling, daardoor kunnen we veilig meer M402 geven en dus de groeifactoren beter remmen. Alvleesklierkanker is een therapie ongevoelige tumor en het is van groot belang om nieuwe therapieën te ontwikkelen. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat M402 in een muizenmodel voor alvleesklierkanker het effect van chemotherapie versterkt. In dit onderzoek testen we hoe M402 de behandeling met chemotherapie verbetert.
Doel/hypothese: We denken dat M402 de tumorcellen in de alvleeskliertumor gevoeliger maakt voor de effecten van chemotherapie door een werking te hebben op de invasieve cellen in de tumor. We denken dat behandeling met chemotherapie de cellen invasiever maakt waarna m402 deze cellen minder invasief maakt en gevoeliger voor chemotherapie. Hierdoor zullen de muizen langer leven dan muizen die niet behandeld worden.
Globale aanpak vraagstelling: Met behulp van dit onderzoek willen we antwoord krijgen op de vraag hoe de overleving van de muizen van onze modellen voor pancreas tumoren is in vergelijking tot elders gegenereerde pancreas tumor modellen. Om deze reden willen we ook graag de ontwikkeling van de tumor volgen. Hiervoor is het gebruik van proefdieren noodzakelijk omdat bij de overleving van muizen met pancreastumoren eindeloos veel processen betrokken zijn die we niet op een andere manier kunnen onderzoeken.

Vergadering 26 september 2012

Titel studie: Farmacokinetiek van cisplatin na intraductale toediening
DEC nummer: 2012.III.09.086

Farmacokinetiek na intraductale toediening van cisplatin
Achtergrond: Borstkanker is de meest voorkomende vorm van kanker bij vrouwen. Een van de behandelingen is het geven van chemotherapie. Momenteel wordt chemotherapie in het hele lichaam gegeven, met als gevolg veel bijwerkingen en schade aan andere organen en weefsels. Bovendien zullen in het borstweefsel zelf nooit maximaal hoge weefselspiegels worden bereikt. Borstweefsel voorziet in een alternatieve route om via de tepel medicatie toe te dienen. De eerste onderzoeken met een beperkt aantal middelen laten een redelijk positief effect zien, maar nog onvoldoende om als effectieve therapie of preventie van borstkanker te kunnen dienen. Daarnaast moeten ook eventuele nadelige effecten worden uitgesloten en wordt er een mogelijkheid gezocht om de voorkomende systemische bijwerkingen te verminderen.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is het bepalen op welke manier de gegeven chemotherapie zich door het lichaam verspreidt.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden via de tepel behandeld met chemotherapie. Vervolgens wordt er bloed afgenomen en wordt een aantal organen en melkklieren uitgenomen. Door het bloed en de organen te analyseren krijgen we een beeld van de verspreiding van de chemotherapie in het lichaam van de muis.

Titel studie: Onderzoek naar beïnvloeding van partusverloop en vitaliteit van de biggen na verschillende vormen van stimulatie van de uterusactiviteit
DEC nummer: 2012.III.09.087

Onderzoek naar beïnvloeding van het geboorteverloop en de mate van levenskracht van de pasgeboren biggen na verschillende vormen van bevordering van de werking van de baarmoeder
Achtergrond: De relatief hoge biggensterfte rondom de geboorte bij varkens wordt als een probleem gezien zowel door de sector als het publiek. Deze sterfte wordt vooral in het laatste derde deel van de uitdrijving gezien. Door verkorting van de geboorteduur wordt getracht de big overleving te verhogen, echter met wisselend resultaat.
Doel/hypothese: Doel van het onderzoek is een vergelijking van geboorteduur en –verloop en de levensvatbaarheid van de pasgeboren biggen in 2 groepen zeugen, waarbij op verschillende wijze de geboorte wordt gestimuleerd met een controle groep, waarbij niet in het geboorteverloop wordt ingegrepen.
Globale aanpak vraagstelling: Op een varkensbedrijf wordt na de geboorte van de vierde big een zeug willekeurig toebedeeld aan een van de onderzoeks groepen. Afhankelijk van de groep wordt er een van de twee geboorte bevorderende middelen toegediend of wordt er niet ingegrepen. Vervolgens wordt het verdere geboorte verloop weer vastgelegd en de mate van levensvatbaarheid van de biggen beoordeeld, zodat een goede vergelijking van de twee methoden mogelijk is. Er is geen andere mogelijkheid om dat onderzoek uit te voeren zonder gebruik van proefdieren. Het varken is hierbij ook het doeldier.

Titel studie: Fok GG3049 KrasG12D P53R172H
DEC nummer: 2012.III.09.088

Uit deze fok worden pups geboren met heterozygote Kras mutatie en homozygote mutatie in p53 die direct ingezet zullen worden voor de fok van muizen van het pancreas tumormodel. Dit model zal ingezet worden voor onderzoek naar ontwikkeling van resistentie in pancreas tumoren. Het doen van goed preklinisch onderzoek in relevante diermodellen is essentieel voor het verbeteren van het onderzoek naar anti-kanker therapieën. Alvleesklierkanker is een van de meest hardnekkige therapie resistente tumoren die we kennen en het ontwikkelen van nieuwe concepten voor therapie is essentieel.

Titel studie: Snelle karakterisatie van muizencellijnen d.m.v. IV injecties
DEC nummer: 2012.III.09.089

Bepaling van de uitzaaiingsmogelijkheden van borstkankercellijnen met verschillende genetische veranderingen
Achtergrond: Als borstkanker uitzaait heeft dit een negatieve invloed op de overlevingskansen van patiënten. Er zijn verschillende onderdelen in de cel belangrijk bij het uitzaaien. Door cellijnen waarbij deze onderdeeltjes zijn veranderd/weggehaald in de bloedbaan van een muis te injecteren, kunnen we relatief snel vaststellen of deze cellen in staat zijn om uit te groeien tot een tumor in de longen.
Doel/hypothese: Bepalen of de borstkanker cellijnen in staat zijn een tumor te vormen in de longen van een muis na injectie in de bloedbaan.
Globale aanpak vraagstelling: De borstkanker cellen worden in de bloedbaan van muizen geïnjecteerd om vervolgens te kijken of ze zullen uitgroeien in de longen van muizen. Die uitgroei kunnen we volgen in een apparaat die de cellen zichtbaar zal maken, aangezien er een soort lichtsignaal aan de cellen is vastgemaakt. Zodra de cellen uitgroeien in de longen tot een grote tumor, zullen de muizen uit het experiment worden gehaald. De testen die in het laboratorium zijn gedaan met deze cellen laten zien, dat de cellen in staat zijn uit te zaaien. Maar in een levend organisme (zoals een muis of mens) gebeuren er veel meer processen die (eventueel) van invloed kunnen zijn op de cellen en deze zijn niet na te maken in het laboratorium. Vandaar dat het getest dient te worden in muizen.

Titel studie: Landbouwhuisdieren – pluimvee
DEC nummer: 2012.III.09.091

Praktisch Onderwijs aan Kippen
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Voor de uitoefening van de Diergeneeskunde is het noodzakelijk dat de dierenarts met levende dieren om kan gaan en klinisch diagnostisch onderzoek aan levende en dode dieren kan verrichten. Het praktisch onderwijs aan kippen beoogt de ontwikkeling van vaardigheid in samenhang met kennis met betrekking tot de omgang, de fixatie en het hanteren, en de uitvoering van onderzoeksmethoden aan levende kippen, alsmede van vaardigheid in samenhang met kennis met betrekking tot het niet-afwijkende en het afwijkende dode dier bij de student Diergeneeskunde gedurende zowel de Bachelor als de Master fase van de opleiding te faciliteren.
Opzet van het onderwijs: Studenten leren onder begeleiding van een docent het vaardig en veilig omgaan met de kip. Het gaat hier om handvaardigheid en observaties aan levende dieren. Dit kan alleen als er levende dieren worden gebruikt. Ook wordt onderzoek op dode dieren verricht, waarbij de techniek van het onderzoek noodzakelijkerwijs de kip volledig verloren doet gaan. Deze techniek is alleen op daarvoor geschikte dode kippen aan te leren en omdat de kip bij het onderwijs verloren gaat, moeten voor dit onderwijs kippen worden gedood.

Titel studie: Use of subpopulations of endothelial progenitor cells to induce vasculogenesis and bone formation
DEC nummer: 2012.III.09.090

Gebruik van subpopulaties van vaatvormende cellen om vaatvorming en botvorming te stimuleren
Achtergrond: Regeneratie van botweefsel in een groot defect blijft een klinisch probleem. Door een gelimiteerd vaatstelsel in dergelijke defecten is de aan- en afvoer van nutriënten minimaal. Stimulatie van het vaatstelsel in en rondom een botconstruct is dan ook essentieel. Hiervoor kunnen vaatvormende cellen (EPC) gebruikt worden. Er kan onderscheid gemaakt worden tussen vroege en late vaatvormende cellen, welke, respectievelijk, op korte termijn een netwerk kunnen maken na implantatie of pas na enige tijd een stabiel netwerk kunnen vervaardigen. De totstandkoming van een dergelijk vaatstelsel kan van groot belang zijn voor botvorming.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is de toepasbaarheid van subpopulaties van vaatvormende cellen (EPCs) in combinatie met botvormende cellen (MSCs) en een dragermateriaal (BCP) te evalueren voor vaatvorming en botvorming.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studies zal een dragermateriaal gecombineerd worden met verschillende componenten om de botvorming en functionele bloedvoorziening naar nieuw bot te optimaliseren. Op verschillende tijdspunten zal de hoeveelheid nieuw gevormd bot en vaatvorming bekeken worden. Deze weefselvorming kan niet op een alternatieve manier plaatsvinden dan in een mens of dier. Door de dragermaterialen onderhuids te plaatsen in een muis, kunnen wij naar de invloed van de verschillende, door ons toegevoegde componenten, op botvorming en vaatvorming kijken.

Titel studie: Invloed van M402 op chemotherapie resistentie in genetisch gemodificeerde muizen die pancreas tumoren krijgen
DEC nummer: 2012.III.09.092

Het effect van een nieuw heparine derivaat (M402) op resistentie voor gemcitabine in pancreas kanker
Achtergrond: Heparine staat bekend om zijn remmende werking op de bloedstolling maar het remt ook allerlei groeifactoren die tumorgroei kunnen stimuleren. M402 is een heparine derivaat wat wel de groeifactoren remt maar veel minder de bloedstolling, daardoor kunnen we veilig meer M402 geven en dus de groeifactoren beter remmen. Alvleesklierkanker is een therapie ongevoelige tumor en het is van groot belang om nieuwe therapieën te ontwikkelen. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat M402 in een muizenmodel voor alvleesklierkanker het effect van chemotherapie versterkt. In dit onderzoek testen we hoe M402 de behandeling met chemotherapie verbetert.
Doel/hypothese: We denken dat M402 de tumorcellen in de alvleeskliertumor gevoeliger maakt voor de effecten van chemotherapie door een werking te hebben op de invasieve cellen in de tumor. We denken dat behandeling met chemotherapie de cellen beweeglijker maakt waarna M402 ervoor zorgt dat de cellen minder bewegen en gevoeliger worden voor chemotherapie waarna meer cellen dood zullen gaan door de behandeling met chemotherapie.
Globale aanpak vraagstelling: Om te onderzoeken wat het effect is van M402 bij de versterking van de werking van gemcitabine zullen we muizen tot 60 dagen na geboorte behandelen met gemcitabine of een combinatie van M402 en gemcitabine. Twee uur voor euthanasie zal de laatste keer gemcitabine gegeven worden. De inzet van muizen is hierbij noodzakelijk omdat het niet mogelijk is om de fysiologische processen in vitro te modelleren.

Titel studie: Mechanismen van immunotherapie voor voedselallergie
DEC nummer: 2012.III.09.093

Het werkingsmechanisme van immunotherapie voor voedselallergie
Achtergrond: Voedselallergie treedt vaak op bij kinderen maar ook bij volwassenen. Deze allergie is ernstig en niet te genezen. Door ons onderzoek in proefdieren wordt getracht mogelijkheden en methoden te vinden om risicofactoren te onderscheiden en nieuwe therapieën te ontwikkelen voor pinda allergie. Allergeen-specifieke immuuntherapie (onder de huid injecteren van het allergisch makende eiwit) is een mogelijke therapie voor voedselallergie, waarvan het werkingsmechanisme helaas nog niet veel bekend is.
Doel/hypothese: Doel van dit project is om te kijken wat de onderliggende mechanismen zijn van immuuntherapie. Mogelijk spelen bepaalde cellen (regulatoire T cel) of een soort antilichaam (IgG) een rol.
Globale aanpak vraagstelling: In deze aanvraag willen we gaan kijken wat het werkingsmechanisme is van immuuntherapie in een veelgebruikt model voor voedselallergie. Na het pinda allergisch maken van muizen ontvangen deze immuuntherapie (injecties met pinda). Gedurende deze therapie kan met behulp van stoffen die regulatoire T cellen kunnen wegvangen of het overspuiten van bloedserum gekeken worden naar de rol van deze cellen of IgG antilichamen. Door een serie blootstellingen met pinda, na therapie wordt gekeken of deze (nog) succesvol is geweest. Dit wordt gedaan in proefdieren om 2 redenen: Immuuntherapie kan nog steeds niet in voedselallergie gebruikt worden door het hoge risico op bijwerkingen in de mens. Het ophelderen van het werkingsmechanisme van deze therapie kan voor een deel ook alleen in de muis.

Titel studie: Therapeutische effecten van pre-/probiotica en synbiotica in voedselallergie
DEC nummer: 2012.III.09.094

Rol van pre- en probiotica in immuunmodulatie in het bijzonder in allergische reacties tegen voedselcomponenten
Achtergrond: Voedselallergie wordt een steeds groter probleem. De afgelopen jaren is er een voedselallergiemodel in de muis opgezet (o.a. voor de melkeiwitten casein, whey en kippeneiwit (hen's egg)). Naast immunologische metingen worden ook functionele darmveranderingen gemeten. Er is veel belangstelling om voedselallergie te behandelen met dieet-interventies, vooral omdat er nog geen geschikte/geijkte methodes beschikbaar zijn voor het behandelen van kinderen met voedselallergie.
Doel/hypothese: Het ontwikkelen van therapieën gericht op het behandelen van voedselallergie. Onderzoeken van het onderliggende mechanisme; welke immuuncellen zijn hierbij betrokken?
Globale aanpak vraagstelling: Dieren worden allergisch gemaakt voor een voedseleiwit (casein, whey, kippeneiwit), daarna worden de muizen op een dieet gezet. Na enkele weken worden de muizen opnieuw blootgesteld aan het eiwit. Onderzocht wordt of de diëten prebiotica (suikers uit moedermelk) en probiotica, de allergische klachten na blootstelling in de muis kunnen verminderen. Daarnaast wordt met antilichamen gekeken welke immuuncellen (Regulatoire T-cellen) een rol spelen bij dit beschermende effect. Complexe pathofysiologische veranderingen liggen ten grondslag aan het ontstaan van voedselallergie. Daarom hebben we het intacte dieren (muizen) nodig. Om het aantal dieren zoveel mogelijk te beperken plannen we zoveel mogelijk dieren op 1 dag om het aantal controle groepen te beperken en worden er verschillende parameters in hetzelfde dier gemeten.

Titel studie: Optimaliseren van de vertraagde overgevoeligheids reactie (DTH) als uitleesparameter
DEC nummer: 2012.III.09.095

Optimalisatie van de vertraagde overgevoeligheids reactie (DTH) als uitlees parameter
Achtergrond: Medicijn geïnduceerde allergieën zijn moeilijk te voorspellen, maar vormen wel een groot probleem. 5 Tot 20 % van de medicijngebruikers lijdt aan een vorm van medicijnallergie met matige tot zeer ernstige gevolgen. Hoe deze ongewenste reacties op medicijnen ontstaan is grotendeels onbekend. Het medicijnallergie onderzoek binnen ons instituut richt zich op het verkrijgen van meer kennis omtrent de mechanismen die betrokken zijn bij het ontstaan van medicijnallergieën.
Hiermee kunnen we ook betere voorspellende modellen ontwikkelen. Gebruik makend van een oraal blootstellings model kan de allergie inducerende werking van medicijnen worden onderzocht. Een van de belangrijkste parameters van dit model is de vertraagde overgevoeligheidsreactie die kan optreden als gevolg van een immuunreactie tegen een medicijn. Echter deze uitleesparameter van dit model is al enige tijd niet stabiel Met behulp van deze experimenten hopen we de oorzaak hiervoor te kunnen achterhalen.
Doel/hypothese: In deze experimenten zullen verschillende mogelijke oorzaken voor de problemen met de vertraagde overgevoeligheidsreactie worden onderzocht zodat deze reactie weer als stabiele uitleesparameter kan worden gebruikt.
Globale aanpak vraagstelling: Dieren zullen in verschillende experimentele settings worden getest op het ontstaan van een goede vertraagde overgevoeligheids reactie. Door alle verschillende onderdelen van de orale blootstelling apart te onderzoeken kan de oorzaak voor de problemen met deze reactie als uitleesparameter worden onderzocht. Dit dient met proefdieren te worden uitgevoerd, omdat het betrokken immuunsysteem dermate complex is dat dit niet met behulp van kweeksystemen na te bootsten is.

Vergadering 24 oktober 2012

Titel studie: Tumor therapie met “central memory” versus “effector memory” T cellen
DEC nummer: 2012.III.10.096

Effect van humane T cellen op humaan myeloom in een muis met humane weefsels
Achtergrond: Kanker kan worden behandeld met afweercellen van een gezonde donor. Wanneer de afweercellen niet lang genoeg overleven in het lichaam, zal het anti-kanker effect helaas niet sterk genoeg zijn. We hebben waargenomen dat humane weefsels in de muis nodig zijn om de overleving van humane afweer cellen (maar ook tumoren) te verlengen. Door nu in deze “gehumaniseerde” muizen de effecten van verschillende afweercellen op tumoren te bestuderen, willen wij de uiteindelijke effectiviteit van therapie verhogen.
Doel/hypothese: Leidt een verlengde overleving van bepaalde afweer cellen in een muis met humane weefsels ook tot een verbeterde afstoting van humane tumoren?
Globale aanpak vraagstelling: Het functioneren van het menselijk afweersysteem en de groei van kanker zijn zo complex dat de werking van immuuntherapie niet onderzocht kan worden in ‘reageerbuizen’. Daarom moeten sommige studies in het lichaam gebeuren. Het lichaam van dieren biedt de noodzakelijke mogelijkheid om therapieën met humane cellen te testen alvorens toepassing in mensen plaats kan vinden. De muizen ontvangen humane stamcellen waaruit zij humaan bot kunnen maken. Hierdoor wordt de overleving van humane afweercellen en humane tumoren meer realistisch. In dit humaan bot kunnen we nu in deze muizen de effecten van verschillende humane afweercellen op humane tumoren bestuderen.

Titel studie: identification and characterisation of mechanisms by which tissue resistent macrophages induce resistance to chemotherapy
DEC nummer: 2012.III.10.097

De rol van miltcellen in resistentie tegen chemotherapie
Achtergrond: Patiënten met kanker worden doorgaans behandelt met chemotherapie om de groei en uitzaaiing van de tumor tegen te gaan. Echter tumoren kunnen resistentie ontwikkelen tegen de chemotherapie waardoor deze niet meer werkt. Het bestuderen van de ontwikkeling van chemotherapie resistentie kan veel inzicht geven in waarom tumoren niet reageren op chemotherapie. Onderzoek in ons lab laat zien dat bepaalde beenmerg cellen als reactie op chemotherapie vetzuren kunnen uitscheiden die via bepaalde cellen in de milt (macrofagen) kunnen leiden tot de ontwikkeling van resistentie. Deze cellen reageren op de vetzuren via 2 receptoren (BLT2 en GPR40) en als gevolg daarvan scheiden ze een aantal nog onbekende stoffen uit die zorgen voor resistentie tegen chemotherapie. Het remmen van deze miltcellen stopt in muizen de vorming van resistentie. Verder onderzoek naar het exacte werkingsmechanisme kan leiden tot de ontwikkeling van nieuwe of betere medicatie tegen kanker.
Doel/hypothese: Het bestuderen van het mechanisme waardoor miltcellen resistentie kunnen veroorzaken tegen chemotherapie. Dit doen we door te kijken hoe de miltcellen via de 2 receptoren reageren op de vetzuren, te onderzoeken welke stoffen de cellen uitscheiden en door te kijken of er ook andere cellen zijn die dit kunnen.
Globale aanpak vraagstelling: Om het mechanisme waarmee miltcellen resistentie kunnen veroorzaken beter te onderzoeken hebben we 4 experimenten opgesteld. 1 &2) In het eerste en tweede deel willen we bepalen welke stoffen door de miltcellen worden uitgescheiden na vetzuuractivatie en welke daarvan resistentie kunnen opwekken in muizen. Het identificeren van deze stoffen kan leiden tot mogelijkheden waarop we deze kunnen remmen. 3) In het derde deel willen we de rol van de 2 receptoren beter onderzoeken door te kijken of de miltcellen van muizen die beide receptoren niet hebben nog wel resistentie kunnen geven. 4) In het vierde onderzoek gaan we onderzoeken of er ook andere cellen zijn

die na blootstelling aan de vetzuren resistentie kunnen opwekken. We focussen ons hierin op de zogenaamde tumor geassocieerde macrofagen. Onderzoek door andere groepen laat zien dat er een verband is tussen de aanwezigheid van deze cellen en chemotherapie resistentie. In samenwerking met het NKI kunnen wij deze cellen krijgen en onderzoeken of ze op de vetzuren kunnen reageren. 5) In het laatste deel willen we ons meer focussen op de tumor en hoe daarin resistentie ontstaat. Een klein pilot experiment laat zien dat de cellen resistentie veroorzaken door de DNA schade als gevolg van de chemo efficiënter te herstellen waardoor de tumorcellen niet doodgaan en de chemotherapie overleven. Voor ons onderzoek is het gebruik van proefdieren noodzakelijk omdat het onmogelijk is de respons van een organisme op chemotherapie in een kweekschaal na te bootsen. De opname, afbraak en uitscheiding van chemo, de vetzuren etc. zijn op geen andere manier te onderzoeken. Daarnaast komt dat de miltcellen die we onderzoeken niet overleven in kweek waardoor we afhankelijk zijn van muizen als donoren voor de cellen.

Titel studie: De invloed van tumor geassocieerde macrofagen en neutrofielen op de overleving en therapie respons van muizen die pancreas tumoren krijgen
DEC nummer: 2012.III.10.098

De invloed van afweercellen op de behandeling en overleving van muizen met alvleeskliertumoren
Achtergrond: Cellen die betrokken zijn bij de afweer van mensen bij ontstekingen kunnen naar tumoren toegetrokken worden. Deze cellen spelen een rol bij de groei van de tumoren en hebben hierdoor een verminderde overleving tot gevolg. Voorheen werd gedacht dat deze afweercellen die belangrijk zijn voor de groei van de tumor voortkomen uit cellen in het beenmerg, maar er is gebleken dat de milt ook een reservoir kan vormen van deze cellen. De cellen kunnen vanuit de milt naar de tumor getransporteerd worden waar ze ervoor kunnen zorgen dat afweercellen zich vermenigvuldigen vooral in het bindweefsel van de tumor. Pancreas tumoren kenmerken zich door de aanwezigheid van grote hoeveelheden bindweefsel. Eerder is gebleken dat verwijdering van de milt een vermindering van afweercellen in longtumoren veroorzaakte waardoor de tumor minder groot werd. Echter is na ons onderzoek in pancreastumoren gebleken dat de hoeveelheid bindweefsel niet afneemt na verwijdering van milt. Toch zien we veranderingen in de tumor die bij zouden kunnen dragen aan verbetering van de reactie van tumorcellen op chemotherapie.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om te onderzoeken wat de invloed van cellen betrokken bij afweer is op de behandeling en overleving van muizen met alvleeskliertumoren.
Globale aanpak vraagstelling: Om te onderzoeken wat de invloed is van de tumor geassocieerde macrofagen en neutrofielen op tumor groei zijn heel veel processen betrokken. In pancreaskanker is stroma betrokken bij deze processen. Dit is niet na te bootsen in vitro.

Titel studie: Invloed van M402 op korte termijn op gemcitabine behandeling
DEC nummer: 2012.III.10.099

Het effect van een nieuw heparine derivaat (M402) op receptor activatie in alvleeskliertumoren in muizen
Achtergrond: Heparine staat bekend om zijn remmende werking op de bloedstolling maar het remt ook allerlei groeifactoren die tumorgroei kunnen stimuleren. M402 is een heparine derivaat wat wel de groeifactoren remt maar veel minder de bloedstolling, daardoor kunnen we veilig meer M402 geven en dus de groeifactoren beter remmen. Alvleesklierkanker is een therapie ongevoelige tumor en het is van groot belang om nieuwe therapieën te ontwikkelen. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat M402 in een muizenmodel voor alvleesklierkanker het effect van chemotherapie versterkt. In dit onderzoek testen we of M402 de behandeling met chemotherapie op korte termijn kan beïnvloeden door receptor activatie te remmen. Deze receptoren kunnen door chemotherapie geactiveerd worden waardoor de tumor ongevoeliger wordt voor behandeling met chemotherapie.

Doel/hypothese: M402 kan receptor activatie in pancreastumoren verminderen waar behandeling met chemotherapie de activatie van deze receptoren stimuleert. Het doel is om te onderzoeken of deze veranderingen in receptor activatie een gevolg zijn van processen in de tumor of dat deze juist de oorzaak zijn.
Globale aanpak vraagstelling: Om te onderzoeken wat het effect is van M402 bij de versterking van de werking van gemcitabine door remming van activatie van receptoren zullen we muizen met pancreastumoren een eenmalige behandeling geven met M402, gemcitabine of een combinatie van deze behandelingen twee uur voor euthanasie. De inzet van muizen is hierbij noodzakelijk omdat het niet mogelijk is om de fysiologische processen in vitro te modelleren.

Titel studie: Functie van Hepaitische Stellaatcellen in lever regeneratie en fibrose: Rol van ACSL4 in de synthese van poly-onverzadigde triacylglycerol-species en activering van de stellaat cel. DEC nummer: 2012.III.10.100

Functie van Stellaatcellen in lever regeneratie en fibrose bij ratten: De rol van poly-onverzadigde vetzuren
Achtergrond: Leverontstekingen en de soms daarop volgende levercirrose zijn veel voorkomende ernstige ziektes bij mens maar ook bij gezelschapsdieren. Een bepaald type cel in de lever, de zgn. stellaatcellen, spelen een cruciale rol bij het ontstaan en het verloop van deze leveraandoeningen. Door inzicht te krijgen in de rol van poly-onverzadigde vetten in het differentiatie proces van stellaatcellen en de hierbij betrokken enzymen is het misschien mogelijk het proces van weefselherstel in de lever beter te sturen en zo leverontstekingen beter te behandelen.
Doel/hypothese: Doel: Inzicht krijgen in hoe de synthese van poly-onverzadigde vetten wordt gereguleerd en wat de rol is van deze poly-onverzadigde vetten op de differentiatie van stellaatcellen.
Globale aanpak vraagstelling: Dit project beoogd een beter inzicht in dit nog relatief weinig bestudeerde gebied van de rol van het lipide-metabolisme in de activatie van stellaatcellen te verschaffen. Aangezien er geen cellijnen beschikbaar zijn voor de stellaatcel in “rust”, de Vitamine A geladen cel, gebeurt het onderzoek aan geïsoleerde stellaatcellen van ratten.

Titel studie: Role of Rb-p53-E2F7/8 pathway in induction of senescence in liver DEC nummer: 2012.III.10.101

De rol van verschillende genen bij de ontwikkeling van lever veroudering in de muis
Achtergrond: Leverkanker is een van de meest voorkomende, dodelijke vormen van kanker in de mens. Het ontstaan van levertumoren wordt (mede) bepaald door genen die het verloop van celdelingen controleren. Van een aantal genen is bekend dat zij een rol spelen bij deze controle, maar niet duidelijk is hoe ze samenwerken – of juist niet samenwerken - met andere genen. Daarnaast is van de genen die bestudeerd worden bekend dat zij in de ouder wordende lever de levercellen beschermen.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om de mogelijke samenwerking van genen en de rol van verschillende celcyclus controlerende genen in de leververoudering en kanker te bestuderen. De hypothese is dat gecombineerde uitschakeling van alle te bestuderen genen een beschermend effect zal hebben tegen het ontwikkelen van leverkanker.
Globale aanpak vraagstelling: We willen het effect van orgaan specifieke uitschakeling (alleen uitgeschakeld in de lever) van twee sets van genen bestuderen in muizen. Door vers geïsoleerde levercellen van deze muizen in kweek te bestuderen kunnen we het verouderingsmechanisme volgen. Op dit moment is er geen cellijn beschikbaar die de gekweekte vers geïsoleerde levercellen kan vervangen. Advies werd verzameld door het bestuderen van literatuur en met het raadplegen van collega-wetenschapper in het veld.

Titel studie: Botvormende capaciteit van verschillende botvormende cellen
DEC nummer: 2012.III.10.102

Karakterisatie van normale humane stamcellen en maligne stamcellen in leukemie en multipel myeloom met therapie ontwikkeling
Achtergrond: Dit gehumaniseerde muizenmodel biedt ons de mogelijkheid om meer inzicht te krijgen in groei en (dis-) regulatie van botformatie, normale bloedcelproductie, en de groei van bloedkankers.
In het verleden hebben wij in dit muizenmodel met name normale botvormende cellen gebruikt. Het is echter ook interessant om te weten of botvormende cellen van bepaalde patiënten en/of genetisch gemanipuleerde botvormende cellen ook in staat zijn om in dit scaffoldmodel bot te vormen/bloedvormende cellen te ondersteunen.
Doel/hypothese: In dit onderzoek willen wij verschillende normale, van patiënten afkomstige en genetisch gemanipuleerde botvormende cellen testen voor hun botvormende capaciteit in ons scaffold model. Op basis van eerdere resultaten verwachten we dat niet alle botvormende cellen even goed bot kunnen vormen in dit model.
Globale aanpak vraagstelling: In deze experimenten zullen muizen onderhuids worden geïmplanteerd met poreuze keramische partikels met een grootte van circa 2-3 mm, waarop verschillende botvormende cellen zijn uitgezaaid. Hoewel de verschillende botvormende cellen van te voren in een reageerbuis worden getest op hun mogelijkheid tot ontwikkeling richting het vormen van bot, is het niet mogelijk om botontwikkeling volledig na te bootsen in een reageerbuis. Omdat de huidige reageerbuis experimenten niet per definitie voorspellend zijn voor hun capaciteit om daadwerkelijk bot te vormen in het lichaam is de inzet van proefdieren noodzakelijk. 6 tot 8 weken na implantatie van de scaffolds zal worden bepaald of de cellen al dan niet een laag humaan bot hebben gevormd.

Titel studie: De rol van de beenmergomgeving in normale hematopoiese en pediatrische myelodysplastische syndromen (pMDS)
DEC nummer: 2012.III.10.103

De rol van de beenmergomgeving in normale bloedaanmaak en pediatrische myelodysplastische syndromen (pMDS)
Achtergrond: MDS is een ziekte waarin het beenmerg verminderd of helemaal niet meer in staat is normale bloedcellen te vormen. Bovendien gaat MDS vaak over in leukemie. Van alle kinderen met kanker, heeft ongeveer 5% MDS. Veel kinderen met MDS overlijden binnen 1-2 jaar na de diagnose. De ziekte is slechts te genezen met een stamceltransplantatie, maar dit is een heel intensieve behandeling waaraan kinderen kunnen overlijden of blijvende schade overhouden. De laatste tijd zijn er steeds meer aanwijzingen dat mogelijk de ondersteunende cellen in het beenmerg een rol spelen in het ontstaan van MDS. Door het ontbreken van goede reageerbuisexperimenten en geschikte muizenmodellen, is echter nooit direct bewijs geleverd dat deze ondersteunende cellen ook een rol spelen in het ontstaan van MDS in mensen.
Doel/hypothese: Aangezien recente studies aanwijzingen geven dat MDS mogelijk mede ontstaat door afwijkingen in ondersteunde cellen in het beenmerg willen wij met behulp van de scaffoldmuizen uitzoeken wat de rol is van de bloedstamcellen en de ondersteunende cellen in het beenmerg, in de groei en ontwikkeling van MDS.
Globale aanpak vraagstelling: Het beter begrijpen van een ziekte zal uiteindelijk leiden tot betere behandelingsmogelijkheden. Dit geldt ook voor MDS. Omdat is gebleken dat MDS niet goed te bestuderen valt in reageerbuisexperimenten, vinden wij het verantwoord en van toegevoegde waarde dat we dit verder willen onderzoeken m.b.v. scaffoldmuizen. In deze muizen wordt er eerst in een muis een menselijke bot-omgeving gecreëerd door implantatie van een scaffold die bezaaid is met
botvormende menselijke stamcellen die in dit geval afkomstig zijn van normale individuen of MDS patiënten. Hierop worden vervolgens bloedstamcellen ingespoten (hetzij normaal of MDS) waarna vervolgens geanalyseerd wordt of de bloedcellen die uitgroeien al dan niet normale of MDS-achtige kenmerken vertonen.

Titel studie: Groei van normale en gemanipuleerde hematopoietische stamcellen in een gehumaniseerd muizenmodel
DEC nummer: 2012.III.10.104

Normale en gemanipuleerde bloedcelaanmaak

Achtergrond: In ons lab wordt o.a. onderzoek gedaan naar processen in bloedcellen die leiden tot verandering van de uitrijping van deze cellen. Om de uitrijping van bloedcellen goed te kunnen bestuderen hebben we een techniek opgezet om op basis van eiwitten die aan de buitenkant van de cel zitten, de cellen in te kunnen delen in verschillende stadia van uitrijping. Doordat we al deze stadia kunnen onderscheiden, kunnen we de werkingsmechanismen van processen in de cel, en het effect hiervan op de uitrijping veel beter bepalen op een objectieve manier. Echter, tot nu toe is dit alleen gedaan in reageerbuisexperimenten, en zijn de precieze werkingsmechanismen nog onbekend. Wij vinden het belangrijk om deze mechanismen uit te zoeken, enerzijds om heel basale kennis op te doen over hoe de cellen werken, maar anderzijds ook omdat we weten dat deze processen een rol spelen in kanker. Als we weten hoe het werkt, zal dat ten goede komen aan het ontwikkelen van nieuwe behandelingsmethodes.

Doel/hypothese: Wij willen de effecten van het (genetisch of met medicijnen) manipuleren van stamcellen op de normale bloedaanmaak bestuderen.

Globale aanpak vraagstelling: We willen allereerst de normale bloeduitrijping bestuderen in gehumaniseerde scaffold-muizen, en deze vergelijken met de reageerbuisexperimenten. Vervolgens willen we door middel van medicijnen en genetische manipulatie een bepaalde verandering aanbrengen in de celdeling- en differentiatieprocessen van bloedstamcellen, zodat we zien hoe deze processen bijdragen aan de uitrijping van bloedcellen. Deze resultaten kunnen we gebruiken voor de behandeling van uitrijpingsstoornissen in het bloed, maar ook van allerlei andere ziektes waaronder kanker, tijdens welke deze celprocessen zijn ontregeld. Het is nodig hiervoor proefdieren te gebruiken, omdat dit de enige manier is waarop we de celprocessen kunnen bestuderen in een levende “menselijke” omgeving.

Vergadering 21 november 2012

Titel studie: Fok van B6;129S4-F8(tm1Kaz)/J muizen
DEC nummer: 2012.III.11.105

Doel en wetenschappelijk/maatschappelijk belang: Hemofilie is een erfelijke bloedstollingsziekte veroorzaakt door een tekort aan stollingsfactor VIII (Hemofilie A), of stollingsfactor IX (Hemofilie B). Vanwege het tekort aan een van deze stollingsfactoren hebben hemofiliepatiënten intravasculair een verminderd vermogen tot trombine vorming. Dit resulteert in een verstoorde bloedstollingscascade en verlengde bloedingstijden. Dit maakt hemofilie patiënten vatbaarder voor spontane bloedingen. Hemofiliepatiënten krijgen frequent spontane en trauma-geïnduceerde bloedingen in de gewrichten. Dit resulteert in hemofilie arthropathie. Vanwege het ontbreken van goede preventieve en curatieve behandelingen kunnen gewrichtsbloedingen bij hemofiliepatiënten leiden tot ernstige gewrichtsschade, verminderde kwaliteit van leven en invaliditeit. Uiteindelijk zijn gewrichtsvervangende chirurgische interventies de enige oplossing voor patiënten. Deze procedures worden bemoeilijkt door de verminderde bloedstolling en zijn bovendien erg kostbaar. Verschillende studies van onze groep hebben aangetoond dat blootstelling aan bloed van zowel dierlijk (hond) als humaan synoviaal weefsel en gewrichtskraakbeen resulteert in blijvende schade. Tot op heden is het echter onbekend hoe de stolling intra-articulair bij hemofiliepatiënten verloopt, en waarom juist gewrichtsbloedingen zo vaak optreden bij hemofiliepatiënten. Om dit verder te kunnen onderzoeken willen we gebruik maken van zogenaamde hemofilie A muizen (B6;129S4-F8-tm1Kaz/J). Dit zijn genetisch gemodificeerde muizen met een knock-out voor bloedstollingsfactor VIII. Mannelijke dieren zijn heterozygoot en vrouwelijke dieren zijn homozygoot. Deze dieren vormen een geno- en fenotypisch model voor de humane hemofilie situatie en zijn derhalve uitermate geschikt voor onze experimenten. De motivatie voor de inzet van proefdieren ligt in het feit dat in vitro experimenten een beperkte afspiegeling vormen van de in vivo situatie bij zo'n complex systeem als de stollingscascade. Verder zijn er geen andere alternatieven voorhanden en zijn humane studies bij hemofiliepatiënten naar dit onderwerp ethisch niet haalbaar. De afgelopen drie jaar zijn er diverse experimenten uitgevoerd om meer inzicht te krijgen in de pathogenese van de gewrichtsschade na een bloeding en de effecten van verschillende interventies te beoordelen. Bij alle experimenten wordt in het rechter kniegewricht van de proefdieren een gewrichtsbloeding geïnduceerd middels een punctie met een naald. Afhankelijk van de opzet van het experiment is daarna al dan niet een interventie geweest door intra-articulair bijvoorbeeld IL4/IL10 toe te dienen. Op verschillende tijdstippen na de punctie worden de proefdieren opgeofferd om de bloed-geïnduceerde schade te analyseren. Post mortem worden in ons laboratorium de kniegewrichten geanalyseerd middels verschillende histologische en biochemische technieken. Deze analyses hebben een eerste inzicht gegeven in het verloop van de intra-articulaire bloedstolling in relatie tot bloed-geïnduceerde gewrichtsschade en het effect van enkele interventies hierop. Om dit inzicht verder te kunnen uitbouwen zijn meer experimenten conform bovenstaande opzet nodig. Dit onderzoek zal ons inzicht geven over eventuele aangrijpingspunten in de intra-articulaire stollingscascade welke geschikt zijn voor de preventie of curatie van hemofilie arthropathie. Het uiteindelijke doel van ons onderzoek is de behandeling van hemofilie arthropathie te verbeteren en daarmee de morbiditeit voor de patiënt te beperken

Titel studie: Ontwikkeling ex vivo/in vitro knieartrose distractie model
DEC nummer: 2012.III.11.106

Ontwikkeling ex vivo/in vitro knieartrose model
Achtergrond: Artrose is een invaliderende gewrichtsaandoening die steeds vaker voorkomt in onze vergrijzende en steeds ouder wordende bevolking. Tot op heden is artrose niet te genezen en zal in veel gevallen leiden tot verminderde kwa-

liteit van leven en uiteindelijk gewrichtvervangende operaties (plaatsen van een prothese). Hiermee vormt de ziekte een toenemend sociaal economisch probleem. Zowel biochemische als biomechanische componenten spelen een belangrijke rol in het ontstaan en de progressie van artrose welke tevens belangrijke aangrijpingspunten zijn voor behandeling van de ziekte.
Doel/hypothese: Met behulp van een model waar we de verschillende biomechanische en biochemische componenten in detail kunnen beïnvloeden in een gewricht dat zo goed als mogelijk intact wordt gelaten, kunnen we mechanisme in het ontstaan en daarmee behandeling van artrose beter bestuderen.
Globale aanpak vraagstelling: Het ex vivo/in vitro of wel bio-mechano-reactor model maakt gebruik van experimentele artrose in de honden knie volgens een bestaand model. Modulatie van de artrose vindt (na euthanasie van de hond) volledig plaats in een opstelling in het laboratorium en vormt daarmee geen belasting meer voor het (proef)dier. Op deze manier worden de voordelen van diermodellen en laboratorium kweeksystemen optimaal geïntegreerd. In het huidige onderzoek zal in eerste instantie gebruik worden gemaakt van gezonde dieren om dit bio-mechano-reactor model verder te optimaliseren. Het systeem is een model, mede met als doel het 'lijden' van de dieren en het aantal dieren (door uiteindelijk gebruik van surplus materiaal) zoveel mogelijk te beperken. In de dieren wordt in de uiteindelijke studie opzet in vivo artrose ontwikkeld volgens een bestaand model en wordt het gewricht na euthanasie van het dier zoveel mogelijk intact onder laboratorium condities gemoduleerd. Waar mogelijk wordt zoveel mogelijk gebruik gemaakt van surplus dieren. In de huidige aanvraag betreft het gebruik van 12 honden knieën van 6 gezonde dieren om het model (het apparaat waarin de knie uiteindelijk geplaatst gaat worden voor de laboratorium modulatie) verder te ontwikkelen. Om dit te kunnen doen zijn de grootte en de exacte mechanische en biochemische eigenschappen van een echte honden knie noodzakelijk.

Titel studie: Bloeddonorprogramma voor canine patiënten
DEC nummer: 2012.III.11.117

Bloeddonatieprogramma voor honden
Achtergrond: Op de Universiteitskliniek voor Gezelschapsdieren wordt de transfusie van bloed en bloedproducten toegepast als onderdeel van de topklinische zorg. Omdat er geen interne donorpopulatie is wordt gebruik gemaakt van een externe bloedbank. Technische aspecten van bloeddonatie beperken echter soms de inzet van bloedtransfusies in de patiëntenzorg en voedt de noodzaak voor een aanvullend intern bloeddonorprogramma. Er is uitgebreide expertise intern aanwezig en de belasting voor de donor wordt hierdoor tot een minimum beperkt. Hiermee is de belasting voor het proefdier als direct gevolg van de donaties beperkt.
Doel/hypothese: Het verkrijgen van volbloed (en bloedproducten) voor de behandeling van honden met verschillende bloedaandoeningen op de Universiteitskliniek voor Gezelschapsdieren (UKG).
Globale aanpak vraagstelling: Omdat het doel het verkrijgen van volbloed is kan alleen van dieren gebruik worden gemaakt. Van de donorhonden zal elke 6 weken 500 ml bloed worden afgenomen. De behoefte aan bloeddonaties betreft op jaarbasis ongeveer 100-150 donaties (Gebaseerd op de administratie van het huidige bloedtransfusieprogramma.) Eén hond kan gemiddeld 8 donaties per jaar geven. Om de gewenste aantallen donaties te verkrijgen zijn dus uiteindelijk 12 honden nodig. Het programma zal echter starten met 8 honden. De literatuur geeft aan dat de donatie voor proefhonden een routine is die een balans vormt tussen de welzijnsbelasting van het dier en de noodzaak om voldoende bloed te verkrijgen. Voorafgaande aan een bloeddonatie wordt de hond lichamelijk onderzocht en vastgesteld dat de hond gezond is en geen bloedarmoede heeft. Als dit goed is dan wordt tijdens een bloedafname de hond gefixeerd en wordt via een halsader bloed afgenomen in een bloedzak met naald. In de zak zit citraat als ontstollingsmiddel. Het afgenomen bloed wordt verwerkt en in de koelkast/vriezer bewaard of direct aan de recipiënt (= de patiënt die behoeft heeft aan bloed) toegediend. De donorhond wordt ter observatie een dag gecontroleerd op eventuele neveneffecten van de donatie (bv. nabloeden van de insteekopening) voordat hij wordt teruggeplaatst.

Titel studie: Distinct T cell receptors mediate different anti-tumor reactivity against a broad panel of tumor cells in vivo
DEC nummer: 2012.III.11.118

Adoptieve T cel immunotherapie voor de behandeling van kanker
Achtergrond: Adoptieve transfer van witte bloedcellen (met name T cellen), die specifieke eiwitten herkennen op tumorcellen, is een veelbelovende behandeling voor kwaadaardige tumoren. Echter, de frequentie van tumor specifieke T cellen is vaak erg laag waardoor het moeilijk wordt om deze cellen te isoleren voor elke patiënt afzonderlijk. Om een snelle productie te faciliteren, kunnen T cellen zo geprogrammeerd worden met T cel receptor genen, dat ze tumor specifieke capaciteiten krijgen en daardoor tumoren gericht kunnen opruimen. Hoewel de eerste klinische onderzoeken haalbaarheid en potentiële activiteit tegen tumoren van deze benadering lieten zien, werd er slechts in enkele patiënten een klinische respons gezien. Dit maakt verbetering van deze therapie noodzakelijk.
Doel/hypothese: In vitro heeft de techniek zich al bewezen. Het doel van dit experiment is het aantonen van efficiëntie en veiligheid van geherprogrammeerde T cellen in vivo. In dit onderzoek willen we verschillende T cel receptorgenen testen. Daarnaast willen we testen of de geherprogrammeerde T cellen tumoren van verschillende herkomst kunnen herkennen en verwijderen in vivo.
Globale aanpak vraagstelling: In een preklinisch model zullen geherprogrammeerde humane T cellen, die verschillende T cel receptoren hebben, ingespoten worden in tumor dragende muizen. Op deze manier kunnen wij, door te kijken naar tumorgroei, bepalen welke T cellen beter in staat zijn tumorgroei te remmen, Dit zal ons belangrijke informatie verschaffen voor de ontwikkeling van deze immuuntherapie gericht tegen een breed panel van tumorcellen.

Titel studie: De rol van RAF1 en LIMK in colorectal cancer
DEC nummer: 2012.III.11.119

RAF1 en LIMK1 in darmkanker
Achtergrond: Darmkanker is de op één na grootste oorzaak van kanker-gerelateerd overlijden in de westerse wereld. Zodra de ziekte uitgezaaid is werkt chemotherapie weliswaar levensverlengend, maar biedt geen hoop meer op overleving. De resistentie van darmtumoren tegen de reguliere therapeutica is dus een groot klinisch probleem. Basaal onderzoek naar deze resistentie heeft aangetoond dat darmtumoren een 'overlevingsroute' gebruiken die hen in staat stelt de chemotherapie te overleven. De relevantie van die route, waarin de enzymen Raf1 en LIMK1 een centrale maar tegengestelde rol spelen, wordt in dit project onderzocht. Wij zullen onderzoeken hoe het gedrag van 5 afzonderlijke patiënt-afgeleide tumoren verandert als de activiteit van beide enzymen (Raf1 en LIMK) experimenteel wordt beïnvloedt. Daarbij maken wij onderscheid tussen: (1) Tumorvormend vermogen (getest in de subcutane ruimte (onderhuids), (2) metastaserend vermogen (getest d.m.v. intrasplenische injecties (in de milt) en (3) therapie respons (getest in lever tumoren).
Doel/hypothese: Het bepalen van de rol van RAF1 en LIMK in i) de vorming, ii) de uitzaaiing en iii) de therapierespons van 5 patiënt-afgeleide darmtumor kweken.
Globale aanpak vraagstelling: Wij hebben in 5 afzonderlijke tumoren het Raf1 gen uitgeschakeld met 2 afzonderlijke RNAi's (zoals gebruikelijk in dit type experiment) of het LIMK1 gen tot expressie gebracht. Samen met de controle groep zijn dat dus 4 groepen. Deze 4 groepen zullen in immuundeficiënte muizen onderhuids, in de milt of in de lever geïnjecteerd worden. Tumoren die uitgroeien in de lever zullen vervolgens ook behandeld worden met oxaliplatin en 5FU, de standaard behandeling van darmkanker patiënten. Alle in vitro experimenten zijn gedaan en laten een essentiële rol zien voor LIMK1 en Raf1 in de overleving van darmtumorcellen. Echter tumorvorming, metastasering en therapierespons hangen ook heel erg af van de directe omgeving van de tumor en kunnen dus niet in vitro bestudeerd worden.

Titel studie: 2012.III.11.121
DEC nummer: Analyse uitscheiding van Schmallenberg virus in sperma na experimentele infectie van stieren

Kan stierensperma het Schmallenbergvirus bevatten nadat een stier besmet is geraakt met dit virus
Achtergrond: Enige tijd na de uitbraak van het Schmallenbergvirus in Europa hebben vrijwel alle landen buiten Europa (zgn. derde landen) tot nader order hun grenzen gesloten voor de import van sperma, embryo's en eicellen van runderen en schapen. Voor producenten, exporteurs, importeurs en gebruikers van dit erfelijk materiaal is het daarom van groot belang om te weten of dit erfelijk materiaal besmet kan worden met Schmallenbergvirus. Sperma van stieren is een van de belangrijkste materialen van runderen voor export en daarom is het belangrijk om te weten of het Schmallenbergvirus na infectie in sperma van stieren uitgescheiden kan worden en of er dan sprake kan zijn van een infectieus virus.
Doel/hypothese: Vaststellen of het Schmallenbergvirus na infectie uitgescheiden kan worden in het sperma van stieren.
Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek zullen 2 stieren geselecteerd worden (CRV) welke tot op dat moment niet in contact geweest zijn met het Schmallenbergvirus. De dieren zullen afgezonderd van andere dieren gehuisvest worden bij de Faculteit diergeneeskunde (FD) in een stal die vrij gehouden kan worden van het Schmallenbergvirus overdragende insecten (culicoides species). Beide stieren worden 1 week voor de proef gehuisvest in de onderzoeksstal en op dag 0 geïnoculeerd met het Schmallenberg virus (1ml subcutaan). Vanaf dag 0 zal gedurende de resterende looptijd van het experiment 3 maal per week bloed afgenomen worden van de stieren voor de detectie van het Schmallenbergvirus. Totaal zal vanaf dag 0 t/m dag 15, 6x bloed worden afgenomen. In totaal zal er 15x sperma gevangen worden met behulp van een kunstkoe en kunstschede. Na afloop van het onderzoek zullen beide stieren geëuthanaseerd worden voor pathologisch onderzoek en zullen weefsels van de genitaal tractus bemonsterd worden voor detectie van het Schmallenbergvirus. Het is niet mogelijk om dit zonder proefdieren uit te voeren.

Titel studie: Bepaling van biomarkers en genexpressiepatronen in bloedserum en gewrichtsvloeistof van veulens gedurende het eerste levensjaar
DEC nummer: 2012.III.11.122

Bepaling van biomarkers en genexpressiepatronen in bloedserum en gewrichtsvloeistof van veulens gedurende het eerste levensjaar
Achtergrond: Een van de kenmerken van volwassen kraakbeen is het lage weefselmetabolisme en de daarmee gepaard gaande slechte herstelcapaciteit in geval van trauma. Bij jonge dieren daarentegen is het kraakbeenmetabolisme en -herstel nog in hoge mate dynamisch. Echter, de moleculaire factoren die verantwoordelijk zijn voor het dynamische karakter van jong kraakbeen zijn nog niet bekend. Het doel van deze studie is het in kaart brengen van deze factoren. De resultaten van dit onderzoek kunnen gebruikt worden voor het ontwikkelen van technieken om kraakbeendefecten bij mensen en dieren te herstellen.
Doel/hypothese: Dit betreft een studie naar de ontwikkeling en het herstellend vermogen van kraakbeen in gewrichten van paarden gedurende hun eerste levensjaar in vergelijking met het herstelproces bij volwassen dieren.
Globale aanpak vraagstelling: Dit onderzoek omvat het regelmatig afnemen van gewrichtsvloeistof en bloed van veulens in hun eerste levensjaar. Omdat het aanbod van veulens bij de Universiteitskliniek voor paarden laag is en we voor dit onderzoek uitsluitend gebruik kunnen maken van monsters van dieren die algeheel gezond zijn, hebben we een aantal paardenmelkerijen bereid gevonden mee te werken. Om voldoende onderzoeksmateriaal te verzamelen en om een tijdslijn op te bouwen van de status van kraakbeenontwikkeling op verschillende tijdspunten in het eerste levensjaar, is het de bedoeling elk kwartaal een bezoek te brengen aan de desbetreffende melkerij voor monstername bij de veulens die op dat moment beschikbaar zijn.

Titel studie: De rol van p120 en alpa-catenine in de ontwikkeling en progressie van borstkanker
DEC nummer: 2012.III.11.123

Het bestuderen van borstkankerontwikkeling en -progressie middels transplantatie assays en induceerbare remming van genen
Achtergrond: Borstkanker wordt veroorzaakt door een veelvoud van genetische veranderingen. De rol van verschillende genen in het ontstaan van borstkanker is echter nog niet bekend. Met dit onderzoek willen we de rol van verschillende kandidaatgenen onderzoeken door het gen uit te schakelen en te bepalen wat het effect is op het ontwikkelen van borsttumoren in muizen. Als bekend is welke genen een rol spelen, vormt dit de basis voor de ontwikkeling van nieuwe behandelingen voor borstkanker.
Doel/hypothese: Het bestuderen van de bijdrage van verschillende kandidaatgenen aan de ontwikkeling en progressie van borstkanker.
Globale aanpak vraagstelling: Borstcellen zullen worden geoogst uit muizen en in het laboratorium zullen verschillende genen worden uitgeschakeld. Vervolgens zullen deze cellen worden ingespoten in andere muizen om zo de ontwikkeling van borsttumoren te kunnen vervolgen. Het is belangrijk om de rol van tumoren in muismodellen te bestuderen, omdat deze grote gelijkenis vertonen met de situatie in mensen.

Titel studie: cKIT inhibitors target colorectal cancer cells
DEC nummer: 2012.III.11.124

De rol van gedifferentieerde tumorcellen in dikkedarmkanker
Achtergrond: Dikkedarmkanker is de derde meest voorkomende vorm van kanker in de Westerse wereld. Chemotherapie is niet curatief en chirurgische verwijdering is slechts mogelijk in een klein gedeelte van de patiënten. Darmtumoren zijn net als normaal darmweefsel hiërarchisch opgebouwd.
Een klein aantal 'kankerstamcellen' drijft tumorgroei en metastasering, zoals normale stamcellen de continue vernieuwing van darmweefsel stuwen. Het is van groot belang om te onderzoeken wat de signalen zijn waarvan kankerstamcellen afhankelijk zijn. Het is de verwachting dat alleen dan tumorgroei bij de wortel kan worden aangepakt.
Doel/hypothese: Darmkanker stamcellen zijn afhankelijk van signalen van het cKIT enzym om hun tumorvormend vermogen te behouden.
Globale aanpak vraagstelling: Ons doel is om te onderzoeken of remmers van het cKIT enzym effectief kankerstamcelgroei en tumorvormend vermogen kunnen verminderen in kankercellen afkomstig van patiënten. We zullen humane darmkankercellen behandelen met bovengenoemde remmers en deze 'voorbehandelde' cellen onderhuids in muizen spuiten. Deze experimenten zullen het effect van remmers van cKIT op tumorgroei in de tijd aantonen. Omdat de lever de meest voorkomende plaats van metastasen op afstand in darmkanker is, we willen onderzoeken of cKIT remmers humane tumorgroei in de lever kunnen onderdrukken. Om dit te kunnen onderzoeken wordt eerst een klein stukje tumor in de lever van de muizen getransplanteerd, later zullen cKIT remmers worden toegediend om de tumorgroei proberen te remmen. We gebruiken muizen in deze experimenten, omdat het onmogelijk is het bovenstaande proces in een kweekschaaltje of anderszins te bestuderen.

Vergadering 12 december 2012

Titel studie: Meting van critical body residues voor stoffen met een narcotiserend werkingsmechanisme in aquatische organismen
DEC nummer: 2012.III.12.125

Meting van kritische hoeveelheden van narcotiserende verbindingen in aquatische organismen
Achtergrond: Er wordt aangenomen dat de meeste industrieel geproduceerde chemicaliën niet-specifiek aangrijpen in het lichaam en zodoende effecten kunnen veroorzaken. In het bijzonder is het celmembraan een doelwit voor deze stoffen: na opname hopen de stoffen zich passief op in de membranen en verstoren zodoende de voor een cel cruciale processen. Een interessant gegeven is, dat membranen van verschillende diersoorten grote onderlinge overeenkomsten vertonen, of het nu zoogdieren, vissen, of geleedpotigen betreft. De hypothese is dat alle niet-specifiek werkende stoffen bij dezelfde concentratie in het membraan effecten veroorzaken. De combinatie van deze gegevens zou inhouden dat elk van de duizenden stoffen met een dergelijk werkingsmechanisme in elke diersoort effecten veroorzaakt bij één en dezelfde membraanconcentratie. Deze mogelijkheid kan, na grondige toetsing, leiden tot een flinke reductie van het aantal dieren dat gebruikt wordt voor de risicobeoordeling van milieugevaarlijke stoffen, m.n. ten behoeve van de Europese REACH wetgeving. Immers, het inzicht in de effect-concentratie van een enkele stof in een enkele diersoort zou toegepast kunnen worden op de vele beschikbare stoffen met eenzelfde werkingsmechanisme en de veiligheid kunnen waarborgen van de organismen in een ecosysteem die die worden blootgesteld. Het is bekend dat een groot deel van de bestaande stoffen tot deze groep behoren.
Doel/hypothese: Het doel is om te onderzoeken of de membraanconcentraties van een aantal uiteenlopende stoffen met een niet-specifieke werking gelijk zijn op het moment waarop het testorganisme effecten vertoont ten gevolge van blootstelling aan de stof. De overeenkomst tussen soorten wordt getest, door de experimenten uit te voeren met drie uiteenlopende diersoorten, waarbij 9 stoffen worden getest op aquatische wormen en vlokreeftjes en 8 op guppen.
Globale aanpak vraagstelling: De stoffen worden afzonderlijk gedoseerd in een testsysteem, waarin zich enkele individuen van één van de drie diersoorten bevinden. Zodra er sterfte optreedt bij een worm of een vlokreeftje, of in het geval van een guppy, wanneer de kieuwbeweging stopt, wordt hij uit het systeem verwijderd en geanalyseerd op de hoeveelheid opgenomen teststof. Vervolgens wordt de concentratie in de membraanfase berekend met behulp van een verdelingsmodel, gebaseerd op de samenstelling van het gebruikte testorganisme. Deze laatste stap maakt het huidige onderzoek vernieuwend en de gegevens beter interpreteerbaar ten opzichte van voorgaande studies. Het nadeel van de experimenten is dat diergebruik onvermijdelijk is; er is geen surrogaatsysteem beschikbaar, dat betrouwbaar inzicht geeft in kritieke membraanconcentraties.

Titel studie: oefenen van dierexperimentele technieken
DEC nummer: 2012.III.12.126

Ontwikkeling van humane monoclonale antistoffen voor kankertherapie /oefenen van technieken voor uitvoering van onderzoek in tumormodellen in muizen
Achtergrond: Dit project betreft de ontwikkeling van nieuwe en verbeterde monoclonale antistoffen voor gebruik in de behandeling van kanker bij mensen. De antistoffen zijn gegenereerd in een parallel project en geselecteerd op specifieke binding aan tumorcellen. In celkweek wordt uitvoerig bestudeerd hoe de antistoffen de groei van tumorcellen kunnen blokkeren. De tweede stap is de evaluatie in muizen waarin onderhuids tumortjes worden geïmplanteerd die een goed model vormen voor een tumor bij de mens. Het doel van dit onderzoek is om kennis omtrent effectiviteit en werkingsmechanisme van tumor specifieke antistoffen te verkrijgen ter voorbereiding van klinische evaluatie in patiënten.

Doel/hypothese: Deze aanvraag betreft het oefenen van technische vaardigheden die nodig zijn voor het uitvoeren van de tumorproeven, zoals het geven van intraveneuze injecties en bloedafname uit het hart.
Globale aanpak vraagstelling: Goede biotechnische vaardigheden zijn essentieel om de evaluatie van antistoffen in tumormodellen goed uit te voeren, Het gaat hier om technieken die alleen op levende muizen te oefenen zijn. Dit zal gedaan worden met muizen die al eerder in een proef gebruikt zijn, als een laatste handeling onder narcose, zodat het additionele ongerief gering is.

Titel studie: Effectiviteit van CD44 gerichte monoclonale antilichaam therapie bij het multipel myeloom
DEC nummer: 2012.III.12.127

Effectiviteit van tegen CD44 gerichte monoclonale antilichaam therapie bij het multipel myeloom (Ziekte van Kahler)
Achtergrond: Voor het testen van nieuwe middelen voor de behandeling van multipel myeloom (MM), (d.i. een tumor van cellen uit het beenmerg) zijn geschikte diermodellen van wezenlijk belang. Door de absolute afhankelijkheid van myeloomcellen van een humane bot/beenmerg omgeving om te kunnen groeien, hebben we op het UMC Utrecht daarvoor een speciaal muizenmodel ontwikkeld. Daarbij wordt gebruik gemaakt van kleine partikels (3-4 mm) van een zeer poreus kunststof materiaal waarop stamcellen (afkomstig uit beenmerg van gezonde donoren) worden uitgezaaid en vervolgens onder de huid van muizen worden ingebracht. Hierin ontstaat na verloop van tijd, niet alleen menselijk bot, maar ook het steunweefsel oftewel stroma (d.i. het netwerk van cellen in het merg van de botten waar bij patiënten ook de MM tumorcellen groeien) is van humane origine. Wanneer hierin vervolgens MM tumorcellen worden geïnjecteerd, blijkt dat deze kunnen groeien en tumoren vormen. Omdat de MM tumorcellen “in hun natuurlijke omgeving “groeien” resulteert dit in een “gehumaniseerd” diermodel dat uitermate geschikt is gebleken om nieuwe geneesmiddelen te testen. Recent is een nieuw geneesmiddel ontwikkeld dat kan binden aan het zogenaamde CD44 molecuul dat op MM tumorcellen voorkomt. Hierdoor kan het immuun-(afweer) systeem de tumorcellen herkennen en opruimen. Om de vraag te kunnen beantwoorden of dit nieuwe middel bij myeloompatiënten mogelijk effectief is, wordt het volgende onderzoek voorgesteld.
Doel/hypothese: Het nieuwe (antiCD44) geneesmiddel dat getest gaat worden, behoort tot de zogenaamde monoclonale antilichamen (MA). Dit zijn eiwitten die specifiek aan bepaalde structuren op het celoppervlak kunnen binden, in dit geval aan CD44 op MM tumorcellen. Door de binding van het antiCD44 MA aan het CD44 molecuul op de MM cellen, leidt dit direct en indirect tot celdood en vervolgens tot afname van de tumor. Het humane MA wordt getest in een volledig gehumaniseerd systeem. Hiermee wordt “de omgeving” waarin de MM cellen in patiënten groeien in sterke mate benaderd. Indien het anti CD44 MA in deze experimenten effectief blijkt, zal dit een belangrijke ondersteuning vormen voor verdere klinische ontwikkeling van antiCD44 therapie bij patiënten met multipel myeloom (ziekte van Kahler).
Globale aanpak vraagstelling: Muizen waarin onder de huid multipel myeloom tumoren groeien (in een gehumaniseerde bot-stroma omgeving, zoals hierboven beschreven) worden behandeld met het antiCD44 MA. De MM cellen zijn genetisch gemarkeerd met het luciferasegen waardoor de MM cellen het luciferase enzym gaan maken. Dit gen is oorspronkelijk afkomstig van het vuurvliegje. Als de muizen, nadat ze onder narcose zijn gebracht, worden geïnjecteerd met luciferine, zal het luciferase enzym in de tumorcellen dit omzetten en gaan de cellen licht produceren. Dit wordt bioluminescentie genoemd en is te meten met heel gevoelige, speciaal daarvoor ontwikkelde apparatuur. Door gebruik te maken van bioluminescentie is het mogelijk om dezelfde dieren herhaaldelijk te meten hetgeen proefdier besparend is. De hoeveelheid licht die uit een tumor komt hangt af van de grootte van de tumor. Als de antiCD44 therapie werkt, dan zal de hoeveelheid licht in de behandelde dieren afnemen (tumor wordt kleiner) en bij de controle dieren toenemen (tumor blijft groeien).
Voor de vertaling naar een klinische toepassing heeft het testen van nieuwe middelen op van patiënten afkomstige MM cellen, veruit de voorkeur. Patiënten MM cellen groeien niet in vitro maar wel in muizen met een gehumaniseerde bot-stroma omgeving. Bovendien zijn in een in vivo model dezelfde “invloeden” aanwezig als bij tumoren van patiënten,

zoals de invloed van de omliggende normale cellen/weefsels, de doorbloeding, penetratie van het MA in de tumor, de bijdrage van complement en effector cellen van de het immuun systeem. Om deze redenen worden deze experimenten in muizen uitgevoerd.

Titel studie: Interacties in de hematopoietische niche tijdens groei van multipel myeloom en acute leukemie en bij therapeutische interventie
DEC nummer: 2012.III.12.128

Interacties in de hematopoietische niche tijdens groei van multipel myeloom en acute leukemie en bij therapeutische interventie

Achtergrond: Multipel myeloom en acute leukemie zijn nog steeds levensbedreigende ziekten waar meer dan 50% van de patenten aan zullen overlijden. Het ontwikkelen van nieuwe inzichten die ons meer leren over de processen die de groei van de leukemiecellen sturen is van groot belang om nieuwe
effectieve therapieën te ontwikkelen. Alleen langs deze weg is het mogelijk om de kans op genezing te vergroten. Nieuwe therapieën zijn van levensbelang.

Doel/hypothese: Stamcellen (SC); zowel normale SC van leukemie als SC van multipel myeloom, ziekte van Kahler, zijn uitermate afhankelijk van de juiste locatie (in het beenmerg) omdat daar de specifieke groeifactoren en interacties met de steuncellen in het beenmerg kunnen plaatsvinden. Doordat wij in staat zijn om in een muis een “gehumaniseerde bot/beenmerg omgeving” te creëren is het dus mogelijk om (1) zowel normale als abnormale stamcellen in hun groei te volgen en de effecten van nieuwe anti tumor medicijnen te volgen. (2) Ook kunnen we onderzoeken wat de verschillen zijn tussen verschillende stadia van deze ziekten, waarop de ongevoeligheid voor bepaalde medicijnen is gebaseerd en (3) wat er van de in ontwikkeling zijnde nieuwe middelen voor de behandeling van “resistente” patiënten, in de vorm van nieuwe chemotherapeutica of monoclonale antilichamen, bij klinische toepassing, verwacht mag worden.

Globale aanpak vraagstelling: Achtergrond: Om inzicht te krijgen in het ziekteproces bij beenmergkanker, zoals het multipel myeloom (MM, ziekte van Kahler) en acute leukemie (AL), en voor het testen van nieuwe middelen voor de behandeling hiervan, zijn daarvoor geschikte diermodellen van wezenlijk belang. Doordat de leukemiecellen van MM en AL patiënten afhankelijk zijn van een humane bot/beenmerg omgeving om te kunnen groeien, hebben we op het UMC Utrecht daarvoor een speciaal muizenmodel ontwikkeld. In vitro bot maken is niet mogelijk. Daarbij wordt gebruik gemaakt van kleine partikels (3-4 mm) van een zeer poreus kunststof materiaal waarop stamcellen (afkomstig uit beenmerg van gezonde donoren) worden uitgezaaid en vervolgens onder de huid van muizen worden ingebracht. Hierin ontstaat na verloop van tijd, niet alleen menselijk bot, maar ook het steunweefsel oftewel stroma (d.i. het netwerk van cellen in het merg van de botten waar bij leukemiepatiënten de tumorcellen groeien) is van humane origine. Tumorcellen van MM en AL patiënten blijken in dit “gehumaniseerde systeem” te kunnen groeien en tumoren te vormen.

Door de MM/AL cellen genetisch te markeren met het luciferasegen gaan de cellen het luciferase enzym aanmaken. Dit gen is oorspronkelijk afkomstig van het vuurvliegje. Als de muizen, nadat ze onder narcose zijn gebracht, worden geïnjecteerd met luciferine, zal het luciferase enzym in de tumorcellen dit omzetten en gaan de cellen licht produceren. Dit wordt bioluminescentie genoemd en is te meten met heel gevoelige, speciaal daarvoor ontwikkelde apparatuur. Door gebruik te maken van bioluminescentie is het mogelijk om dezelfde dieren herhaaldelijk te meten hetgeen proefdier besparend is. De hoeveelheid licht die uit een tumor komt hangt af van de grootte van de tumor. Als een tumor groeit dan zal de hoeveelheid licht uit de tumor toenemen (tumor wordt groter) en zal afnemen bijvoorbeeld na therapie (tumor wordt kleiner). Vraagstellingen en aanpak: (1) Kunnen we door patiënten leukemiecellen in dit model te laten uitgroeien meer van dit (doorgaans) schaarse materiaal verkrijgen voor verder onderzoek? Aanpak: cellen van een verschillende patiënten worden op groei getest en voor verdere experimenten opgeslagen en gebruikt. (2) Kunnen we de invloed die deze MM/AL cellen hebben op botaanmaak en botafbraak in dit model bestuderen; (dit is m.n. een complicatie bij MM patiënten). Aanpak: door de MM tumorcellen bepaalde groeifactoren te laten produceren wordt onderzocht of dit invloed

heeft op de botvorming/afbraak en op uitgroei van de tumorcellen. (3) Daarnaast willen we nieuwe medicijnen in dit model uittesten om daarmee een stevige basis te verkrijgen om deze in de kliniek te gaan toepassen. Aanpak: muizen waarin subcutaan MM en AL tumoren groeien worden behandeld nieuw ontwikkelde medicijnen en de effecten op groei worden gemeten. Waarom proefdieren nodig zijn: Voor de vertaling naar een klinische toepassing geniet onderzoek met van patiënten afkomstige tumorcellen, veruit de voorkeur. Deze groeien nauwelijks of niet in vitro maar wel in muizen met een gehumaniseerde bot-stroma omgeving. Bovendien zijn in een in vivo model dezelfde "invloeden" aanwezig als bij tumoren van patiënten, zoals de invloed van de omliggende normale cellen/weefsels, de doorbloeding, penetratie van het MA in de tumor, de bijdrage van complement en effector cellen van de het immuun systeem. Om deze redenen worden de experimenten in muizen uitgevoerd.

Titel studie: Immunotherapie voor Berkenpollen allergie met recombinante eiwitten
DEC nummer: 2012.III.12.129

Immunotherapie voor berkenpollenallergie: Mogelijkheden van immunotherapie met eiwitten gemaakt in bacteriën
Achtergrond: Berkenpollenallergie treedt vaak op en leidt ook tot voedselallergieën. Middels onderzoek in de muis wordt getracht mogelijkheden en methoden te vinden om risicofactoren te onderscheiden en nieuwe of verbeterde therapieën voor berkenpollenallergie te ontwikkelen.
Doel/hypothese: Immunotherapie voor berkenpollenallergie is nu nog risicovol. Dit project wil in de muis kijken hoe effectief immunotherapie (in de neus toedienen van allergeen) met vormen van een berkenpolleneiwit gemaakt in bacteriën, berkenpollenallergie in muizen kan behandelen.
Globale aanpak vraagstelling: Dit onderzoek wordt gedaan in proefdieren om 2 redenen: Immuuntherapie kan nog steeds niet in veel vormen van allergie gebruikt worden door het hoge risico op bijwerkingen in de mens. Het testen van de effectiviteit van deze therapie kan ook alleen in de muis omdat dit veranderingen in het hele immuunsysteem betreft, wat nog niet in vitro te bestuderen is.

Titel studie: Het mechanisme van immunotherapie voor voedselallergie met gemodificeerd pindaeiwit
DEC nummer: 2012.III.12.130

Werkingsmechanisme van immunotherapie met een gemodificeerd pinda eiwit extract
Achtergrond: Voedselallergie treedt vaak op bij kinderen maar ook bij volwassenen. Pinda allergie is ernstig en niet te genezen. Door onderzoek in proefdieren wordt getracht mogelijkheden en methoden te vinden om risico's te onderscheiden en nieuwe therapieën te ontwikkelen voor pinda allergie.
Doel/hypothese: Het doel van deze proef is na te gaan in een muismodel wat het werkingsmechanisme is van immunotherapie met een gemodificeerde extract.
Globale aanpak vraagstelling: In deze aanvraag willen we gaan kijken wat het werkingsmechanisme is van immunotherapie met een gemodificeerd pinda extract. Allereerst kijken we wat voor veranderingen in het immuunsysteem optreden gedurende deze therapie. Hierna kijken we of specifieke immuuncellen die een regulerende rol hebben in het immuunsysteem ("regulatoire T cellen") een rol spelen tijdens immuuntherapie. Dit wordt gedaan in proefdieren om 2 redenen: Immuuntherapie kan nog steeds niet in voedselallergie gebruikt worden door het hoge risico op bijwerkingen in de mens. Het ophelderen van het werkingsmechanisme van deze therapie kan ook alleen in de muis omdat dit veranderingen in het hele immuunsysteem betreft.

Titel studie: Het genereren van geïmmortaliseerde mouse embryonic fibroblasts (MEF cellen) uit GAPR-1 knockout muizen
DEC nummer: 2012.III.12.131

De biologische rol van GAPR-1
Achtergrond: De doelstelling van het onderzoek is verkrijgen van inzicht in de fysiologische rol van het eiwit GAPR-1. Er zijn allerlei aanwijzingen voor een rol van dit eiwit bij diverse belangrijke cellulaire processen, maar er zal nog veel onderzoek nodig zijn voor we een compleet beeld hebben van wat dit eiwit allemaal doet. We hebben GAPR-1 knockout muizen laten genereren in de USA. Deze muizeb zijn, wat een groot aantal eigenschappen betreft, vergeleken met ongemuteerde muizen.
Doel/hypothese: In de hier voorgestelde proeven willen wij geïmmortaliseerde (= oneindig doorgroeiende) muis embryonale fibroblasten (MEF cellen) genereren uit embryo's van GAPR-1 knockout muizen en uit ongemuteerde muizen. Door vergelijking van wat er gebeurt in MEF cellen waarin GAPR-1 geheel of gedeeltelijk afwezig is met dat wat er gebeurt in wildtype MEF cellen kan kennis verkregen worden over de werking van GAPR-1 op moleculair niveau in een intacte cel.
Globale aanpak vraagstelling: Drachtige GAPR-1 knockout en ongemuteerde muizen worden gedood en hun uterus wordt eruit gehaald. Hieruit worden de embryo's geprepareerd. Van elk embryo worden de hersenen, de lever en het hart verwijderd. Uit het resterende deel van de embryo's worden door behandeling met het enzym trypsine cellen vrijgemaakt. Deze cellen worden gekweekt in celkweekflessen. Hoewel de meeste cellen in kweek een beperkte levensduur hebben, ontstaan er na enige tijd (door spontane mutaties) cellen die oneindig door kunnen groeien en delen (geïmmortaliseerde cellen). Zonder inzet van proefdieren is deze procedure onmogelijk.

Titel studie: Combination therapy of ABC-transporter inhibitors and irinotecan for colorectal cancer
DEC nummer: 2012.III.12.132

Combinatie behandeling van Irinotecan met een signaaltransductie-remmer bij dikke darmkanker
Achtergrond: Darmkanker staat op een tweede plaats in de lijst van kanker-gerelateerde doodsoorzaken in de Westerse wereld. Verschillende redenen kunnen hieraan ten grondslag liggen, bijvoorbeeld de zeer matige respons op chemotherapie. Chemotherapie maakt deel uit van de behandeling van darmkanker in een gevorderd stadium, echter zijn er op dat moment vaak uitzaaiingen aanwezig en wordt de prognose van de patiënt aanzienlijk slechter. Irinotecan is onderdeel van deze chemotherapeutische behandeling. Jammer genoeg kan er tot op heden nog niet veel winst geboekt worden op het gebied van overleving. Om deze reden willen we testen hoe de behandeling met chemotherapie effectiever kan.
Doel/hypothese: Het doel van dit project is om aan te tonen dat een combinatie behandeling van tumoren in muizen gevormd door injectie van humane dikke darm kanker cellen met irinotecan en een van de signaaltransductie-remmers in staat is tumoren te doden of tumorgroei te remmen. Daarnaast willen we de effectiviteit van de verschillende middelen vergelijken.
Globale aanpak vraagstelling: De respons van tumorcellen op chemotherapie wordt in sterke mate bepaald door de omgeving. Deze omgevingsfactoren zijn zo complex en uitgebreid dat dit nog niet in een laboratoriumsetting kan worden nagebootst. Hierdoor is het doen van dieronderzoek nog noodzakelijk met betrekking tot respons op chemotherapie. Daarom willen wij tumoren laten opgroeien onder de huid van muizen en deze muizen behandelen met irinotecan en een signaaltransductie-remmer, om zo de respons van de tumoren op deze middelen te kunnen onderzoeken.

Titel studie: Onderwijs assistenten chirurgie
DEC nummer: 2012.III.12.133

Assistenten heelkunde onderwijs
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Dit onderwijs is een combinatie van training van een jongerejaars en een ouderejaars assistenten Heelkunde in opleiding, onder supervisie van een staflid chirurgie. In dit diermodel kan onderwijs gegeven worden dat nooit kan worden uitgevoerd in de dagelijkse praktijk op een kunstmodel. Hier kunnen diverse darm reconstructies worden gerepeteerd en ook gecontroleerd worden op technisch resultaat.
Opzet van het onderwijselement: Het trainen van ingrepen naar behoefte, incl. darmnaden, biliodigestieve anastomosen en vaatchirurgische ingrepen.

Titel studie: Wordt het effect van supplementatie met prebiotica t.t.v. de zwangerschap gemedieerd middels de moedermelk
DEC nummer: 2012.III.12.134

Het effect van prebiotica tijdens de zwangerschap op de ontwikkeling van allergie in het kind
Achtergrond: Verschillende onderzoeken hebben aangetoond dat prebiotica (onverteerbare vezels) kunnen bijdragen aan het verbeteren van resistentie tegen bacteriële en virale infecties bij pasgeborenen en ook de incidentie van allergie kunnen verminderen. Hierbij wordt vaak gezien dat er veranderingen optreden in de darmflora, en er wordt gesuggereerd dat het positieve effect van prebiotica deels wordt bewerkstelligd door het aantal bifidobacteriën en lactobaccillen ("goede bacteriën") te verhogen. In andere studies is echter ook waargenomen dat prebiotica directe effecten kunnen hebben op het immuunsysteem. Allergieën worden een steeds groter probleem, en tot dusver zijn er geen strategieën ontwikkeld om dit probleem te voorkomen.
Doel/hypothese: In ons vorige experiment hebben we gezien dat toevoeging van prebiotica aan het voer van moederdieren t.t.v. de zwangerschap leidde tot veranderingen in het immuunsysteem van de nakomelingen, en daarom willen we in dit experiment bevestigen dat prebiotica het ontstaan van allergische astma in de nakomelingen kan voorkomen. Bovendien willen we in nader onderzoeken hoe deze bescherming tot stand komt.
Globale aanpak vraagstelling: We willen zwangere muizen gaan voeren met een controledieet of een dieet waaraan prebiotica zijn toegevoegd. Daarna gaan we in de nakomelingen kijken of zij als gevolg van die toegevoegde prebiotica minder gevoelig zijn voor het ontwikkelen van allergische astma dan de nakomelingen van muizen die controlevoer hebben gekregen. Omdat het in dit onderzoek gaat om een interactie van verschillende systemen is het gebruik van proefdieren noodzakelijk. Tijdens de zwangerschap vinden er complexe veranderingen plaats in het immuunsysteem van de moeder(muis), wat niet na te bootsen is met bijvoorbeeld cellijnen. Ook het effect van een dieetinterventie in de moeder op het immuunsysteem van de nakomelingen is dermate ingewikkeld dat hiervoor nog geen proefdiervrije alternatieven mogelijk zijn.

Titel studie: De invloed van FOXO op de ontwikkeling en het metatstasespectrum van invasief lobulair carcinoom bij de muis
DEC nummer: 2012.III.12.135

De natuurlijke rem op tumorgroei gooien door middel van het heractiveren van groei remmende genen
Achtergrond: Kanker is een van de meest voorkomende doodsoorzaken in de Westerse maatschappij. Door op moleculair niveau inzicht te krijgen in hoe de celgroei stimulerende signalen interpreteert, ontstaat de kans om hier geneesmiddelen mee te ontwerpen om de groei te remmen. Onze experimenten zullen daarom bijdragen aan betere behandeling van

kanker in de toekomst.
Doel/hypothese: Het bestuderen van genen betrokken bij het verwerken van groeisignalen in de cel en de mogelijkheid om tumorgroei en uitzaaiing met deze genen te stoppen.
Globale aanpak vraagstelling: Borstkankercellen uit de muis worden genetisch gemodificeerd zodat genen betrokken bij het stimuleren of remmen van tumorgroei gecontroleerd aan of uitgezet kunnen worden. Deze cellen worden terug gezet in het borstweefsel van de muis en gedurende de tumorgroei worden de te onderzoeken genen aan of uitgeschakeld. Dit systeem biedt de unieke mogelijkheid een tumor in zijn natuurlijke omgeving te volgen en geeft ons ongeëvenaard inzicht in hoe tumorgroei gereguleerd wordt op moleculair niveau.

Titel studie: Mechanism for gamma-delta TCR T cell recognition unraveled
DEC nummer: 2012.III.12.137

Inzicht in de gamma-delta T cel-tumorcel herkenning
Achtergrond: "Adoptieve transfer" van witte bloedcellen (met name T cellen), die tumorcellen kunnen herkennen en doden, is een veelbelovende behandeling voor verscheidene kwaadaardige tumoren. Echter is de frequentie van zulke tumor specifieke T cellen vaak erg laag waardoor het moeilijk wordt om deze cellen beschikbaar te maken voor elke patiënt afzonderlijk. Om een snelle productie te faciliteren, kunnen T cellen geprogrammeerd worden met genen, die coderen voor een tumor specifieke T cel receptor (TCR), het molecuul dat een T cel zijn specificiteit geeft. Deze therapie heet TCR gentherapie. Hoewel de eerste klinische onderzoeken naar TCR gentherapie de haalbaarheid en potentiële activiteit tegen tumoren aan hebben getoond, werd er slechts in enkele patiënten een klinische respons gezien. Het is dus noodzakelijk TCR gentherapie te optimaliseren. Deze aanvraag is onderdeel van een grotere studie naar de verbetering van TCR gentherapie.
Doel/hypothese: Wij richten ons onderzoek op een subset van T cellen die een zogenaamde gamma-delta T cel receptor gebruiken voor tumor herkenning. In deze specifieke studie willen we beter inzicht krijgen in de mechanismen van T cel-tumorcel herkenning. We verwachten dat een specifieke GTPase van belang is in de tumorgroeiremming door gamma-delta TCR T cellen. De uitkomsten van deze studie dragen bij aan gerichte optimalisatie van TCR gentherapie.
Globale aanpak vraagstelling: In het preklinische muismodel testen we of de aanwezigheid van het specifieke GTPase in vivo effect heeft op de tumorgroei remming van gamma-delta TCR T cellen. We hebben het effect van het GTPase al in vitro aangetoond, maar willen nu aantonen dat dit ook in vivo betrokken is bij de T cel-tumorcel interactie. We vergelijken tumoren met verlaagde aanwezigheid van het GTPase met de wild type tumor en verwachten dat tumoren met verlaagde GTPase minder geremd worden in de groei.

Titel studie: Chirurgie kleine herkauwer
DEC nummer: 2012.III.12.138

Het verkrijgen van inzicht en vaardigheid in het uitvoeren van een aantal chirurgische ingrepen bij het levende schaap
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Het onderwijs is opgezet om studenten zo goed mogelijk voor te bereiden op het uitvoeren van chirurgische ingrepen bij patiënten onder (geconditioneerde) omstandigheden en bij 'echte' patiënten. Het betreft diergeneeskunde studenten, studierichting Landbouwhuisdieren, Herkauwers.
Opzet van het onderwijselement: In een veilige leeromgeving worden, in de diergeneeskundige praktijk veel voorkomende chirurgische ingrepen bij kleine herkauwers, geoefend.

Genmab

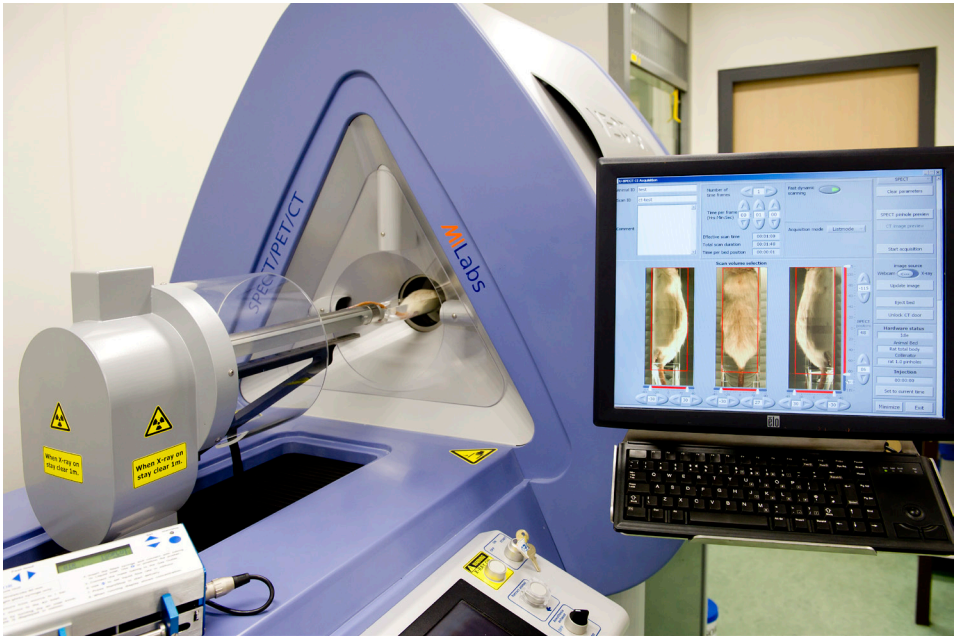
Titel studie: Evaluatie in subcutane xenograft modellen
DEC nummer: 2012.III.01.006

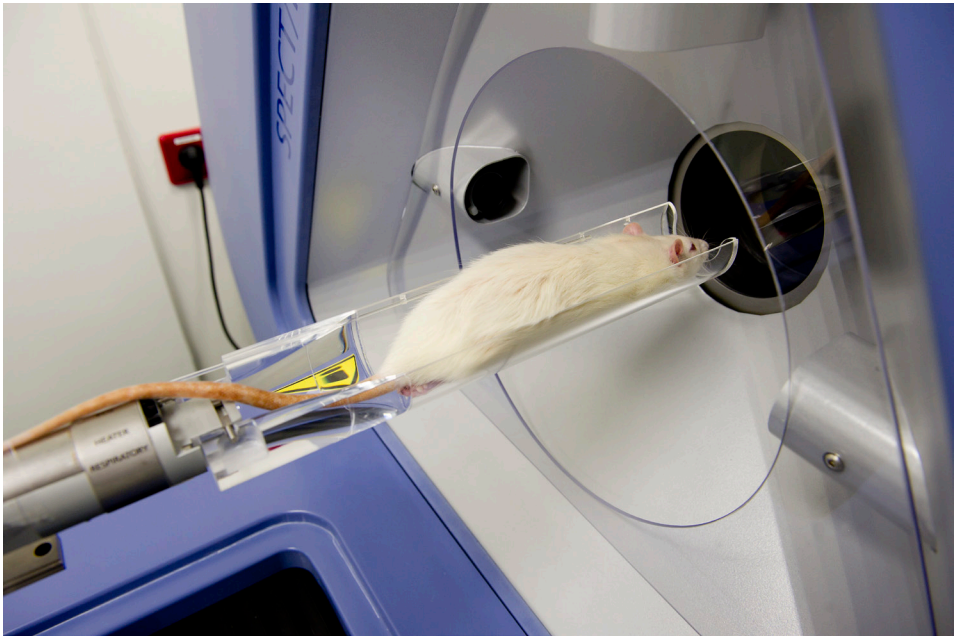
Ontwikkeling van humane monoclonale antistoffen voor kankertherapie /evaluatie in subcutane xenograftmodellen
Achtergrond: Dit project betreft de ontwikkeling van nieuwe en verbeterde antistoffen voor gebruik in de behandeling van kanker bij mensen. De antistoffen zijn gegenereerd in een parallel project en geselecteerd op specifieke binding aan kankercellen. Een deel van deze antistoffen wordt gekoppeld aan een toxische stof om de kanker effectiever te kunnen behandelen. In celkweek wordt uitvoerig bestudeerd hoe de antistoffen de groei van kankercellen kunnen blokkeren.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om kennis omtrent de effectiviteit en het werkingsmechanisme van kanker specifieke antistoffen te verkrijgen ter voorbereiding en ondersteuning van klinische evaluatie in kanker patiënten.
Globale aanpak vraagstelling: Er zal onderzoek gedaan worden in transplantatiemodellen, waarbij kankercellen afkomstig van mensen, onderhuids geïmplanteerd worden bij muizen, waarna ze al dan niet uitgroeien tot kleine tumortjes afhankelijk van de antistof therapie. Voor sommige antistof-formaten is een intact immuunsysteem van belang. Hiervoor worden experimenten uitgevoerd met muizen waarbij de muizen-immuuncellen vervangen worden door menselijke bloedcellen, vervolgens zullen menselijke kankercellen worden geïmplanteerd waarna de behandeling met de menselijke antistoffen plaatsvindt. Als alternatief wordt er gebruik gemaakt van surrogaat muizen-antistoffen, waarbij muizen met een compleet immuunsysteem geïmplanteerd worden met muizen kankercellen. Op deze wijze kan een optimale interactie tussen antistof, immuunsysteem en kankercel bestudeerd worden. Het testen van de effectiviteit van antistoffen in transplantatieproeven is nodig omdat er een completer beeld verkregen wordt. Celkweek experimenten zijn vaak beperkt tot 1 werkingsmechanisme, terwijl in deze dierproeven meerdere mechanismen van een antistof tegelijk een rol spelen, zoals o.a. de bloedvoorziening en het immuunsysteem.

Titel studie: Onderzoek effecten op subcutane tumoren met imaging technieken
DEC nummer: 2012.III.05.050

Evaluatie van monoclonale antistoffen voor behandeling van kanker m.b.v. imaging in muizen
Achtergrond: Antistoffen zijn ontwikkeld die specifiek aan tumorcellen binden. In eerder onderzoek is gebleken dat hiermee tumorgroei geblokkeerd kan worden.
Doel/hypothese: Aan de hand van imagingtechnieken nagaan hoe antistoffen de tumor binnendringen en aan tumorcellen binden. Deze informatie is nodig om de benodigde dosis bij de mens in te schatten.
Globale aanpak vraagstelling: In muizen zullen menselijke tumorcellen geïmplanteerd worden die onder de huid een tumor vormen. Er zullen gelabelde antistoffen worden toegediend waarna met imagingtechnieken (fluorescentie of SPECT) bestudeerd worden hoe deze de tumor binnendringen. Gelijktijdig zal met imaging gekeken worden naar de effecten van de behandeling op de tumor.

Een rat onder anesthesie in de MILabs' VECT or simultane SPECT/PET scanner. DE VECTor wordt gebruikt voor preklinisch oncologie-, cardiovasculair-, en neurologie-onderzoek.





Titel studie: Evaluation of biomaterials and their carriers combined with antibiotics and/or mesenchymal stem cells
DEC nummer: 2012.III.04.040

Vergroting therapeutische bandbreedte biomaterialen
Achtergrond: Op dit moment wordt als gouden standaard om een botdefect te kunnen behandelen lichaamseigen bot uit de bekken gebruikt. Dit brengt echter nadelen met zich mee, zoals chronische bekkenpijn en infecties. Een alternatief materiaal is wenselijk. Om een zo optimaal mogelijk materiaal te kunnen gebruiken dat grote botdefecten kan helen, dient het materiaal verschillende eigenschappen te bevatten, om zodoende botvorming te stimuleren. Onderzoeken richten zich op het verbeteren van bestaande materialen, door verandering van hun eigenschappen, dan wel hun combinatie met stamcellen of antibiotica. Deze materialen zullen in de geit getest worden op botvorming en weefselreactie.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is de effectiviteit van verschillende materialen en hun combinatie met stamcellen of antibiotica te evalueren in de rugspier en in een botomgeving (wervels) van de geit en de rol van het immuunsysteem in botregeneratie te verduidelijken. Dit om het gebruik van lichaamseigen (autoloog) bot, met alle nadelen die daarbij horen, te voorkomen.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studies zullen verschillende biomaterialen, evt. gecombineerd met cellen of antibiotica, geïmplanteerd worden in een geit om de botregeneratie te optimaliseren. Deze weefselvorming kan niet op een alternatieve manier plaatsvinden dan in een mens of dier. Tevens is uit eerder onderzoek aangetoond dat sommige geïmplanteerde biomaterialen ook zonder toevoeging van botcellen kunnen leiden tot nieuwe botvorming in geiten, maar niet in kleinere dieren. Om die reden is er gekozen voor het geitmodel.

Titel studie: Ectopic or intramuscular implantation of biomaterials, with or without cells in mice and rats
DEC nummer: 2012.III.12.136

Implantatie van stamcellen gecombineerd met biomaterialen in muizen of ratten
Achtergrond: Bot- en kraakbeendefecten vormen een groot klinisch probleem. Miljoenen patiënten ondergaan jaarlijks een operatie voor bijvoorbeeld een heupprothese of voor slijtage in het kniegewricht. De afdeling Tissue Regeneration van de Universiteit Twente ontwikkelt nieuwe technologieën voor deze patiënten, gebruik makend van haar expertise in stamcelbiologie en materiaalkunde. In het algemeen zullen er humane cellen worden gekweekt op een biomateriaal (bv. hydroxyapatiet) en deze cel-biomateriaal constructen zullen worden getransplanteerd in bot- of kraakbeendefecten om zo het aangetaste weefsel te vervangen en de functie van het bot of kraakbeen optimaal te herstellen.
Doel/hypothese: Het doel van dit project is de in vivo validatie van nieuw ontwikkelde strategieën om bot- en kraakbeendefecten te genezen met behulp van een combinatie van biomaterialen en stamcellen.
Globale aanpak vraagstelling: Tijdens de studies zullen diverse parameters worden onderzocht zoals verschillende kweekcondities van de stamcellen om bot- en kraakbeenvorming te induceren, kweekcondities om vaat ingroei in het implantaat te stimuleren, diverse voorbehandelingen van de gekweekte cellen en nieuw ontwikkelde biomaterialen. Al deze experimenten hebben ten doel bot- en kraakbeenweefsel in het menselijk lichaam te herstellen. Proefdierexperi-

menten zijn tijdens de translatie van nieuwe technologieën van het laboratorium naar de patiënt helaas nodig. Ons meest gebruikte model is onderhuidse implantatie bij (naakte) muizen. Daarnaast gebruiken wij ook ratten beenmerg stamcellen. Deze worden daartoe geïsoleerd uit bovenbeenbotten van de ratten.

Diervoederbedrijf

Titel studie: Nutritional solutions for sows and neonatal piglets to improve piglet viability and survival
DEC nummer: 2012.III.05.041

Nutritionele oplossingen voor de zeug en pasgeboren biggen om big kwaliteit en big overleving te verbeteren
Achtergrond: Wanneer de melkproductie van zeugen niet goed op gang komt, kunnen de pasgeboren biggen onvoldoende melk opnemen. Deze biggen hebben een lagere kwaliteit en een verhoogde kans om te sterven. Met speciale voeding voor de zeug en voor pasgeboren biggen kan de kwaliteit en de overleving van pasgeboren biggen verbeterd worden.
Doel/hypothese: Het bestuderen van het effect van speciale voeding voor zeugen en voor pasgeboren biggen om de kwaliteit en overleving van biggen te verbeteren.
Globale aanpak vraagstelling: Bij het zeugenonderzoek worden veelbelovende voedingsmiddelen aan het voer voor zeugen toegevoegd om vervolgens het effect op de melkproductie en overleving van biggen te beoordelen. De beoordeling vindt plaats door de biggen te wegen en de groei en de overleving te bepalen. De inzet van proefdieren is noodzakelijk om een aantal belangrijke bloedparameters van de zeug die invloed hebben op de melkproductie te kunnen beoordelen. Bij het biggenonderzoek wordt biggenvoeding verstrekt aan biggen vanaf dag 1 na de geboorte en daarna wordt de groei van de big en kwaliteit van de darmen van de big beoordeeld. Voor het darmonderzoek worden de biggen geëuthanaseerd waarna de vertering van voedingscomponenten, enzymniveaus, darmflora en darmmorfologie bestudeerd kunnen worden. Daarnaast worden bloedmonsters genomen om specifieke immuun parameters en hormonale factoren te meten.

Titel studie: The effect of nutrition on growth performance and health of calves
DEC nummer: 2012.III.11.120

De invloed van voeding op de groei en gezondheid van kalveren
Achtergrond: Kalveren zijn de toekomstige melkkoeien op een melkveebedrijf. Een veehouder wil daarom investeren in goede voeding. Vanwege een stijgende resistentie tegen antibiotica bij mens en dier moet het medicijngebruik in de dierhouderijsector worden verminderd. Daarnaast is het ook vanuit het oogpunt van dierwelzijn wenselijk dat de dieren op een gezonde wijze opgroeien zonder dat daar overmatig medicijngebruik voor nodig is. In het onderhavige onderzoeksproject ontwikkelen we voeding die het dier ondersteunen bij een gezonde ontwikkeling. Door het gebruik van deze producten zal uiteindelijk het medicijngebruik in de veehouderij verder verlaagd kunnen worden.
Doel/hypothese: Voeding die de gezondheid en ontwikkeling in de vroege levensfase van een melkkoe ondersteunt zal leiden tot een efficiëntere melkproductie en een lager medicijngebruik.
Globale aanpak vraagstelling: In dit project worden kalveren met verschillende voeders of voedingscomponenten gevoerd. Het effect hiervan op de groei, ontwikkeling en de gezondheid wordt onderzocht. Het gebruik van kalveren ligt het meest voor de hand aangezien dit ook het doeldier is.



3

Overzicht

Overzicht

Kamer I

Beeldvorming,
Gedrag en Hersenen,
GGO's

* Uitleg codes voorwaarden, vragen en opmerkingen etc. gesteld door de DEC aan onderzoeker

1	Verantwoordelijk onderzoeker
2	Andere regelgeving
3	Bevoegdheid/deskundigheid
4	Toezicht tijdens experiment
7	Doel onderzoek/vraagstelling
8	Belang onderzoek
9	Wetenschappelijke beoordeling
10	Ethische afweging
14	Proefopzet
15	Biotechnische handelingen
16	Anesthesie/analgesie
17	Euthanasie
18	Humane eindpunten
19	Eerst pilot uitvoeren
20	Looptijd
21	Fasering
22	Verlenging looptijd
24	Vermindering
25	Vervanging
26	Verfijning
27	Diersoort
28	Herkomst dieren
29	Schatting omvang fokoverschot
30	Bestemming overtollige dieren/hergebruik
31	Onderbouwing aantal dieren
33	Inschatting ongerief
34	Aangetast fenotype
37	(Tussentijdse) rapportage
38	Huisvesting
39	Lekensamenvattig
40	Samenwerking met derden
41	Administratief probleem
42	Opvragen pre-advies

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2007										
2007.I.07.094	positief voor wijziging	37	1 mei ‘11	1 mei ‘14	proefdier-deskundige		positief			
2009										
2009.I.03.017	positief voor wijziging	32	31 dec ‘11	1 mei ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2009.I.03.017	positief voor wijziging	32	31 dec ‘11	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2009.I.05.027	positief voor wijziging	37	1 sep ‘12	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2009.I.05.031	positief voor wijziging	32	1 aug ‘09	1 mei ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2009.I.05.033	positief voor wijziging	31	1 jul ‘10	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2009.I.12.106	continuering positief	5	31 dec ‘10	1 jan ‘13	12 sep ‘12	terug-rapportage	positief	1		
2010										
2010.I.01.005	positief voor wijziging	32	1 feb ‘11	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief			
2010.I.04.050	continuering positief	29	1 mei ‘13	1 mei ‘13	11 jan ‘12	terug-rapportage	positief			1
2010.I.04.058	positief voor wijziging	32	1 mei ‘12	1 mei ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2010.I.06.073	positief voor wijziging	32		1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.I.06.073	positief voor wijziging	32		1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.I.06.073	afgewezen voor wijziging	32		1 jul ‘13	15 aug ‘12	7, 8	ingetr/ negatief	1		
2010.I.06.076	positief voor wijziging	31	1 jul ‘10	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.I.06.079	positief voor wijziging	32	1 sep ‘09	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2010.I.06.080	positief voor wijziging	32	1 feb ‘12	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2010.I.06.080	positief voor wijziging	32	1 feb ‘12	1 feb ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2010.I.08.103	positief voor wijziging	37	1 mrt ‘12	C2: 1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2010.I.08.103	positief voor wijziging	37	1 mrt ‘12	C2: 1 okto-ber 2013	proefdier-deskundige		positief			1
2010.I.09.105	positief voor wijziging	32	20 sep ‘11	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.I.09.117	positief voor wijziging	32	1 okt ‘11	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.I.10.224	positief voor wijziging	32	1 mei ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.I.10.227	positief voor wijziging	32	1 nov ‘11	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.I.10.227	positief voor wijziging	32	1 nov ‘11	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.I.10.227	positief voor wijziging	32	1 nov ‘11	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.I.10.228	positief voor wijziging	32	1 nov ‘12	1 apr ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.I.10.228	positief voor wijziging	32	1 nov ‘12	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.I.10.228	positief voor wijziging	32	1 nov ‘12	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.I.10.230	positief voor wijziging	37	1 nov ‘11	1 nov ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.I.10.232	positief voor wijziging	5	1 aug ‘12	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2010.I.11.242	positief voor wijziging	32	15 nov ‘11	1 jun ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2010.I.11.242	positief voor wijziging	32	15 nov ‘11	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2010.I.11.245	positief voor wijziging	32	1 dec ‘11	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2010.I.12.256	positief voor wijziging	37	1 dec ‘11	1 mrt ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2010.I.12.260	positief voor wijziging	32	1 dec ‘11	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011										
2011.I.01.004	positief voor wijziging	32	17 jan ‘12	1 mei ‘12	proefdier-deskundige		positief			
2011.I.01.004	positief voor wijziging	32	17 jan ‘12	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief			

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.I.01.005	positief voor wijziging	32	1 feb ‘13	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2011.I.01.007	positief voor wijziging	32	1 jan ‘12	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.01.007	positief voor wijziging	32	1 jan ‘12	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.01.007	positief voor wijziging	32	1 jan ‘12	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.01.009	positief voor wijziging	31	1 jul ‘11	1 nov ‘12	14 sep ‘11		positief	1		
2011.I.01.009	voorl.positief voor wijziging	31	1 jul ‘11	1 feburari 2013	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2011.I.01.009	positief voor wijziging	31	1 jul ‘11	1 feburari 2013	27 jun ‘12		positief	1		
2011.I.01.009	positief voor wijziging	31	1 jul ‘11	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.01.010	positief voor wijziging	32	31 dec ‘11	1 dec ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.01.012	positief voor wijziging	32	1 feb ‘11	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.01.012	positief voor wijziging	32	1 feb ‘11	1 aug ‘12	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2011.I.02.017	positief voor wijziging	32	1 feb ‘12	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.02.017	positief voor wijziging	32	1 feb ‘12	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.02.017	positief voor wijziging	32	1 feb ‘12	1 mrt ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.02.017	positief voor wijziging	32	1 feb ‘12	1 mrt ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.02.017	positief voor wijziging	32	1 feb ‘12	1 mrt ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.02.017	positief voor wijziging	32	1 feb ‘12	1 mrt ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.02.018	positief voor wijziging	35	31 mrt ‘11	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.02.020	positief voor wijziging	32	1 mei ‘14	1 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.03.026	positief voor wijziging	32	1 apr ‘12	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.I.03.027	positief voor wijziging	33	onbekend	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2011.I.03.028	positief voor wijziging	32	15 mrt ‘12	1 apr ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.03.029	positief voor wijziging	32	1 mrt ‘12	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.03.030	positief voor wijziging	35	1 mei ‘12	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.03.037	positief voor wijziging	33	1 mrt ‘13	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2011.I.04.039	positief voor wijziging	37	1 apr ‘12	1 apr ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2011.I.04.043	positief voor wijziging	33	1 sep ‘14	1 mei ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.05.050	positief voor wijziging	35	15 mei ‘12	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.05.050	positief voor wijziging	35	15 mei ‘12	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.05.051	positief voor wijziging	32	31 mei ‘12	1 jun ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.05.053	positief voor wijziging	35	4 jul ‘05	1 jun ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.06.055	positief voor wijziging	13	1 mei ‘11	1 jul ‘13	14 sep ‘11		positief	1		
2011.I.06.056	positief voor wijziging	37	1 jul ‘12	1 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief			
2011.I.06.056	positief voor wijziging	37	1 jul ‘12	1 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief			
2011.I.06.058	positief voor wijziging	32	1 jul ‘12	1 jul ‘12	8 feb ‘12		positief		1	
2011.I.06.060	positief voor wijziging	32	15 jul ‘12	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.06.064	positief voor wijziging	32	1 jul ‘12	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.06.064	positief voor wijziging	32	1 jul ‘12	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.06.067	positief voor terugrapportage	32	1 jul ‘12	1 aug ‘12	11 jan ‘12	terug-rapportage	positief		1	
2011.I.06.067	positief voor wijziging	32	1 jul ‘12	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.l.06.069	positief voor wijziging	31	1 aug ‘12	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.l.06.070	positief voor wijziging	37	onbekend	1 okt ‘11	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.l.08.072	positief voor terugrapportage	32	onbekend	1 okt ‘12	11 jan ‘12	terug-rapportage	positief		1	
2011.l.08.075	positief voor wijziging	37	1 sep ‘12	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.l.08.078	positief voor wijziging	32	1 sep ‘14	1 sep ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.l.08.079	positief voor wijziging	37	1 jan ‘13	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.l.08.079	positief voor wijziging	37	1 jan ‘13	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.l.08.081	positief voor wijziging	37	31 dec ‘11	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.l.09.084	aanhouden voor wijziging	33	1 dec ‘13	1 okt ‘12	8 feb ‘12		aanhou-den		1	
2011.l.09.084	positief voor wijziging	33	1 dec ‘13	1 okt ‘12	14 mrt ‘12		positief		1	
2011.l.09.084	positief voor wijziging	33	1 dec ‘13	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.l.09.087	positief voor wijziging	32	1 sep ‘12	1 okt ‘12	14 sep ‘11		positief	1		
2011.l.09.088	positief voor wijziging		1 feb ‘13	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2011.l.09.090	positief voor wijziging	32	15 sep ‘12	1 nov ‘12	11 jan ‘12		positief	1		
2011.l.09.090	positief voor wijziging	32	15 sep ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.l.09.090	positief voor wijziging	32	15 sep ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.l.09.090	positief voor wijziging	32	15 sep ‘12	1 nov ‘12	11 apr ‘12		positief	1		
2011.l.09.090	positief voor wijziging	32	15 sep ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.l.09.090	positief voor wijziging	32	15 sep ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.l.10.093	positief met opm. en vraag	37	1 nov ‘12	1 nov ‘13	12 okt ‘11		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.I.10.093	positief voor wijziging	37	1 nov ‘12	1 nov ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.10.096	positief voor wijziging	29	16 dec ‘11	1 nov ‘14	15 aug ‘12		positief	1		
2011.I.10.096	continuering pos. adv. met voorw.	29	16 dec ‘11	1 nov ‘14	28 nov ‘12	37	positief	1		
2011.I.10.097	positief voor wijziging	6	1 nov ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.10.097	positief voor wijziging	6	1 nov ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.10.097	positief voor wijziging	6	1 nov ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.10.097	positief voor wijziging	6	1 nov ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.10.097	positief voor wijziging	6	1 nov ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.10.100	geen advies	3	1 okt ‘12	1 nov ‘12	11 jan ‘12			1		
2011.I.10.100	positief voor wijziging	3	1 okt ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.10.100	positief reeds gegeven	3	1 okt ‘12	1 nov ‘12	8 feb ‘12		positief	1		
2011.I.10.100	positief voor terugrapportage	3	1 okt ‘12	1 nov ‘12	12 sep ‘12	terug-rapportage	positief	1		
2011.I.11.101	positief voor wijziging	32	1 nov ‘12	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.11.101	positief voor wijziging	32	1 nov ‘12	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.11.101	positief voor wijziging	32	1 nov ‘12	1 dec ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.11.101	positief voor wijziging	32	1 nov ‘12	1 dec ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.11.101	positief voor wijziging	32	1 nov ‘12	1 dec ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.11.103	positief voor wijziging	32	29 nov ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.11.104	positief voor wijziging	32	1 dec ‘12	1 jan ‘13	11 jan ‘12		positief		1	
2011.I.11.104	positief voor wijziging	32	1 dec ‘12	1 jan ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.I.11.106	positief voor wijziging	37	1 dec ‘12	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.11.106	positief voor wijziging	37	1 dec ‘12	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.11.110	positief voor wijziging	32	1 nov ‘12	1 jan ‘13	30 nov ‘11		positief	1		
2011.I.11.110	afgewezen voor wijzigijg	32	1 nov ‘12	1 jan ‘13	10 okt ‘12		ingetr/ negatief	1		
2011.I.11.110	positief voor wijziging	32	1 nov ‘12	1 jan ‘14	10 okt ‘12		positief	1		
2011.I.11.110	positief voor wijziging	32	1 nov ‘12	1 jan ‘14	21 nov ‘12		positief	1		
2011.I.11.111	positief voor wijziging	32	1 nov ‘12	1 nov ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.12.114	positief voor wijziging	23	31 dec ‘12	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.I.12.115	positief voor wijziging	35	30 nov ‘12	1 jan ‘13	11 jan ‘12		positief		1	
2011.I.12.115	positief voor wijziging	35	30 nov ‘12	1 jan ‘13	Proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.12.115	positief voor wijziging	35	30 nov ‘12	1 jan ‘13	Proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.12.115	positief voor wijziging	35	30 nov ‘12	1 jan ‘13	Proefdier-deskundige		positief		1	
2011.I.12.115	positief voor wijziging	35	30 nov ‘12	1 jan ‘13	Proefdier-deskundige		positief		1	
2012										
2012.I.01.001	positief met voorwaarde	23	31 mrt ‘15	1 feburari 2013	11 jan ‘12	37	positief		1	
2012.I.01.001	positief voor wijziging	23	31 mrt ‘15	1 feburari 2013	Proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.01.002	aanhouden	32	30 nov ‘12		11 jan ‘12	7, 14, 15, 30, 31	aanhou-den	1		
2012.I.01.002	positief	32	30 nov ‘12	1 apr ‘13	14 mrt ‘12		positief	1		
2012.I.01.003	positief met opm. en voorw.	23	28 feb ‘15	1 feburari 2013	11 jan ‘12	14, 15, 37	positief		1	
2012.I.01.003	positief reeds gegeven	23	28 feb ‘15	1 feburari 2013	14 mrt ‘12		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.I.01.004	positief met vraag en opm.	33	1 feb ‘13	1 feburari 2013	11 jan ‘12	10, 30	positief	1		
2012.I.01.004	positief reeds gegeven	33	1 feb ‘13	1 feburari 2013	8 feb ‘12		positief	1		
2012.I.01.004	positief voor wijziging	33	1 feb ‘13	1 feburari 2013	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.01.005	positief met opmerking	35	1 jan ‘17	1 feburari 2013	11 jan ‘12	41	positief	1		
2012.I.01.005	positief reeds gegeven	35	1 jan ‘17	1 feburari 2013	14 mrt ‘12		positief	1		
2012.I.01.005	positief voor wijziging	35	1 jan ‘17	1 feburari 2013	14 mrt ‘12		positief	1		
2012.I.01.006	aanhouden	32	31 jan ‘13		11 jan ‘12	14, 15, 31	aanhou-den		1	
2012.I.01.006	positief met opmerking	32	31 jan ‘13	1 apr ‘13	14 mrt ‘12		positief		1	
2012.I.01.007	positief	32	1 jan ‘13	1 feburari 2013	11 jan ‘12		positief	1		
2012.I.01.008	positief met opmerkingen	32	1 jan ‘13	1 feburari 2013	11 jan ‘12	14, 15, 18	positief		1	
2012.I.01.008	positief reeds gegeven	32	1 jan ‘13	1 feburari 2013	8 feb ‘12		positief		1	
2012.I.01.008	positief voor wijziging	32	1 jan ‘13	1 feburari 2013	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.01.008	positief voor wijziging	32	1 jan ‘13	1 feburari 2013	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.01.009	pos. adv. C1, aangeh. C2, C3 en C4	35	31 dec ‘13	1 feburari 2013	11 jan ‘12	14, 31, 37	positief	1		
2012.I.01.009	positief reeds gegeven	35	31 dec ‘13	1 feburari 2013	11 apr ‘12		positief	1		
2012.I.01.009	pos. adv. met voorw. C2, C3 en C4	35	31 dec ‘13	1 jun ‘15	9 mei ‘12	37	positief	1		
2012.I.01.009	positief voor wijziging	35	31 dec ‘13	1 jun ‘15	30 mei ‘12		positief	1		
2012.I.01.010	positief reeds gegeven	32	1 feb ‘13	1 feburari 2013	8 feb ‘12		positief		1	
2012.I.01.010	positief voor wijziging	32	1 feb ‘14	1 feburari 2013	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.I.02.011	intentie positief, ambt. mogelijk	37	31 jan ‘13		8 feb ‘12	14,15,9	intentie		1	
2012.I.02.011	positief met vraag	37	31 jan ‘13	1 apr ‘13	ambtelijk afgehandeld	7	positief		1	
2012.I.02.011	positief reeds gegeven	37	31 jan ‘13	1 apr ‘13	11 apr ‘12		positief		1	
2012.I.02.012	positief met voorwaarde	32	3 mrt ‘17	1 mrt ‘13	8 feb ‘12	37	positief	1		
2012.I.02.013	positief met vraag en opm.	35	1 jan ‘17	1 mrt ‘13	8 feb ‘12	15, 18	positief	1		
2012.I.02.013	positief reeds gegeven	35	1 jan ‘17	1 mrt ‘13	14 mrt ‘12		positief	1		
2012.I.02.013	positief voor wijziging	35	1 jan ‘17	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.02.013	positief voor wijziging	35	1 jan ‘17	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.02.013	positief voor wijziging	35	1 jan ‘17	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.02.013	positief voor wijziging	35	1 jan ‘17	1 mrt ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.02.014	positief met opmerking	37	1 feb ‘17	1 mrt ‘13	8 feb ‘12	15	positief	1		
2012.I.02.014	positief reeds gegeven	37	1 feb ‘17	1 mrt ‘13	14 mrt ‘12		positief	1		
2012.I.02.014	positief voor wijziging	37	1 feb ‘17	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.02.014	positief voor wijziging	37	1 feb ‘17	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.02.014	positief voor wijziging	37	1 feb ‘17	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.02.015	intentie positief, ambt. mogelijk	37	28 feb ‘13		8 feb ‘12	31, 38, 33	intentie		1	
2012.I.02.015	positief	37	28 feb ‘13	1 mrt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.I.02.016	positief	32	12 feb ‘13	1 mrt ‘13	8 feb ‘12		positief		1	
2012.I.02.017	aanhouden	32	20 feb ‘13		8 feb ‘12	8, 42, 14,	aanhou-den	1		
2012.I.02.017	positief	32	20 feb ‘13	1 apr ‘13	14 mrt ‘12		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.I.02.017	positief voor wijziging	32	20 feb '13	1 apr '13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.02.017	positief voor wijziging	32	20 feb '13	1 apr '13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.02.018	intentie positief, ambt. mogelijk	32	19 feb '13		8 feb '12	42, 15, 14, 37, 9	intentie	1		
2012.I.02.018	positief	32	19 feb '13	1 mrt '13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.I.02.018	positief voor wijziging	32	19 feb '13	1 mrt '13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.02.018	positief voor wijziging	32	19 feb '13	1 mrt '13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.02.018	positief voor wijziging	32	19 feb '13	1 mrt '13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.02.019	aanhouden	33	1 jun '12		8 feb '12	39, 31, 14, 15, 33, 4, 41	aanhou-den	1		
2012.I.02.019	positief met opm. en voorw.	33	1 jun '12	1 apr '13	14 mrt '12	37	positief	1		
2012.I.02.019	positief voor wijziging	33	1 jun '12	1 apr '13	Proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.02.020	positief met vragen	32	1 dec '14	1 mrt '13	8 feb '12	9, 15	positief	1		
2012.I.02.020	positief reeds gegeven	32	1 dec '14	1 mrt '13	11 apr '12		positief	1		
2012.I.02.021	positief met vraag	35	31 dec '12	1 mrt '13	8 feb '12	14	positief		1	
2012.I.02.021	positief reeds gegeven	35	31 dec '12	1 mrt '13	14 mrt '12		positief		1	
2012.I.02.022	intentie positief, ambt. mogelijk	35	31 dec '12		8 feb '12	31	intentie		1	
2012.I.02.022	positief	35	31 dec '12	1 mrt '13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.I.02.022	positief voor wijziging	35	31 dec '12	1 mrt '13	11 apr '12		positief		1	
2012.I.02.023	pos. adv. C1-C3 vragen, aangeh. C4	32	1 feb '15	1 mrt '13	8 feb '12	9, 14, 17, 15	aanhou-den	1		
2012.I.02.023	positief voor C4	32	1 feb '15	1 mrt '13	14 mrt '12		positief	1		
2012.I.02.024	positief met vragen	32	15 aug '12	1 mrt '13	8 feb '12	15, 16, 9	positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.I.02.024	positief reeds gegeven	32	15 aug ‘12	1 mrt ‘13	14 mrt ‘12		positief	1		
2012.I.02.025	positief		4 mei ‘12	1 mrt ‘13	8 feb ‘12		positief		1	
2012.I.02.025	positief voor wijziging		4 mei ‘12	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.02.026	positief met opmerkingen	37	13 feb ‘13	1 mrt ‘13	8 feb ‘12	9	positief	1		
2012.I.02.026	positief	37	13 feb ‘13	1 mrt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.I.02.027	positief	32	15 feb ‘13	1 mrt ‘13	8 feb ‘12		positief		1	
2012.I.02.027	positief voor wijziging	32	15 feb ‘13	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.02.027	positief voor wijziging	32	15 feb ‘13	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.02.028	positief	37	1 mrt ‘13	1 mrt ‘13	8 feb ‘12		positief	1		
2012.I.02.029	intentiepositief, ambt. mogelijk	3	1 dec ‘12		8 feb ‘12	31, 16, 15	intentie		1	
2012.I.02.029	positief	3	1 dec ‘12	1 apr ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.I.02.029	positief voor wijziging	3	1 dec ‘12	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.02.029	positief voor wijziging	3	1 dec ‘12	1 apr ‘13	11 jul ‘12		positief		1	
2012.I.03.030	positief met voorw. en opm.	37	1 apr ‘15	1 apr ‘15	14 mrt ‘12	33, 15, 3, 37	positief		1	
2012.I.03.030	positief reeds gegeven	37	1 apr ‘15	1 apr ‘15	11 apr ‘12		positief		1	
2012.I.03.031	positief met voorw. en opm.	37	1 apr ‘15	1 apr ‘15	14 mrt ‘12	33, 37	positief		1	
2012.I.03.031	positief reeds gegeven	37	1 apr ‘15	1 apr ‘15	11 apr ‘12		positief		1	
2012.I.03.032	positief met voorw. en opm.	29	22 jun ‘12	1 apr ‘15	14 mrt ‘12	33, 37	positief		1	
2012.I.03.032	positief reeds gegeven	29	22 jun ‘12	1 apr ‘15	11 apr ‘12		positief		1	
2012.I.03.033	overname DEC-advies VUmc		onbekend	1 apr ‘13	ambtelijke afhandeling		positief	1		
2012.I.03.034	aanhouden, ambt. mogelijk	35	31 dec ‘12		14 mrt ‘12	14, 15, 9, 28, 38	aanhou-den	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.I.03.034	positief	35	31 dec ‘12		ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.I.03.035	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 apr ‘13		14 mrt ‘12	31, 14	intentie		1	
2012.I.03.035	positief	32	1 apr ‘13	1 apr ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.I.03.035	positief voor wijziging	32	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.03.035	positief voor wijziging	32	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.03.035	positief voor wijziging	32	1 apr ‘13	1 apr ‘13	30 mei ‘12		positief		1	
2012.I.03.035	positief voor wijziging	32	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.03.035	positief voor wijziging	32	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.03.036	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 mrt ‘13		14 mrt ‘12	14, 38, 33	intentie		1	
2012.I.03.036	positief	33	1 mrt ‘13	1 apr ‘12	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.I.03.036	positief voor wijziging	33	1 mrt ‘13	1 apr ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.03.037	intentie positief, ambt. mogelijk	35	20 jul ‘12		14 mrt ‘12	7, 31, 14, 1	intentie	1		
2012.I.03.037	positief	35	20 jul ‘12	1 apr ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.I.03.037	positief voor wijziging	35	20 jul ‘12	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.03.037	positief voor wijziging	35	20 jul ‘12	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.03.037	positief voor wijziging	35	20 jul ‘12	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.03.038	positief met opmerking	32	1 mei ‘13	1 apr ‘13	14 mrt ‘12	31	positief	1		
2012.I.03.038	positief voor wijziging	32	1 mei ‘13	1 apr ‘13	14 mrt ‘12		positief	1		
2012.I.03.039	positief	32	15 mrt ‘13	1 apr ‘13	14 mrt ‘12		positief		1	
2012.I.03.040	positief	33	1 apr ‘14	1 apr ‘13	14 mrt ‘12		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.I.03.041	positief met vra-gen en opm.	29	onbekend	1 apr ‘13	14 mrt ‘12	15, 3, 14	positief	1		
2012.I.03.041	positief reeds gegeven	29	onbekend	1 apr ‘13	9 mei ‘12		positief	1		
2012.I.03.041	positief voor wijziging	29	onbekend	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.03.042	positief	32	1 mrt ‘13	1 apr ‘13	14 mrt ‘12		positief	1		
2012.I.03.043	positief met vraag en opm.	33	1 jan ‘17	1 apr ‘13	14 mrt ‘12	15, 14	positief	1		
2012.I.03.043	positief reeds gegeven	33	1 jan ‘17	1 apr ‘13	11 apr ‘12		positief	1		
2012.I.03.044	positief met opmerkingen	32	1 apr ‘13	1 apr ‘13	14 mrt ‘12	37, 14	positief		1	
2012.I.03.044	positief reeds gegeven	32	1 apr ‘13	1 apr ‘13	11 apr ‘12		positief		1	
2012.I.03.044	positief voor wijziging	32	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.03.044	positief voor wijziging	32	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.03.045	vervallen									
2012.I.03.046	positief met vraag en opm.	32	1 apr ‘13	1 apr ‘13	14 mrt ‘12	39, 33	positief	1		
2012.I.03.046	positief reeds gegeven	32	1 apr ‘13	1 apr ‘13	11 apr ‘12		positief	1		
2012.I.03.047	intentie positief, ambt. mogelijk	32	31 aug ‘14		14 mrt ‘12	14, 15	intentie		1	
2012.I.03.047	positief met vraag	32	31 aug ‘14	1 mei ‘13	ambtelijk afgehandeld	24	positief		1	
2012.I.03.047	continuering vraag	32	31 aug ‘14	1 mei ‘13	15 aug ‘12	31	positief		1	
2012.I.03.047	continuering vraag	32	31 aug ‘14	1 mei ‘13	12 sep ‘12		positief		1	
2012.I.03.047	positief reeds gegeven	32	31 aug ‘14	1 mei ‘13	7 nov ‘12		positief		1	
2012.I.03.048	vervallen									
2012.I.04.049	positief	32	1 mei ‘13	1 mei ‘13	11 apr ‘12		positief		1	
2012.I.04.049	positief voor wijziging	32	1 mei ‘13	1 mei ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.I.04.050	positief met vraag en opm.	32	2 apr ‘13	1 mei ‘13	11 apr ‘12	39, 14	positief	1		
2012.I.04.050	positief reeds gegeven	32	2 apr ‘13	1 mei ‘13	30 mei ‘12		positief	1		
2012.I.04.051	positief met vraag	32	1 mei ‘13	1 mei ‘13	11 apr ‘12	14	positief		1	
2012.I.04.051	positief reeds gegeven	32	1 mei ‘13	1 mei ‘13	9 mei ‘12		positief		1	
2012.I.04.051	positief voor wijziging	32	1 mei ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.04.051	positief voor wijziging	32	1 mei ‘13	1 mei ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.04.052	positief avies	32	31 mrt ‘13	1 mei ‘13	11 apr ‘12		positief	1		
2012.I.04.052	positief avies voor wijziging	32	31 mrt ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.04.052	positief avies voor wijziging	32	31 mrt ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.04.053	positief met opmerking	33	28 apr ‘13	1 mei ‘13	11 apr ‘12	15	positief		1	
2012.I.04.053	positief reeds gegeven	33	28 apr ‘13	1 mei ‘13	9 mei ‘12		positief		1	
2012.I.04.053	positief voor wijziging	33	28 apr ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.04.055	intentie positief, ambt. mogelijk	37	31 dec ‘15		11 apr ‘12	14, 15, 7	intentie	1		
2012.I.04.055	positief	37	31 dec ‘15	1 mei ‘13	11 apr ‘12		positief	1		
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec ‘15	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec ‘15	1 mei ‘13	7 nov ‘12		positief	1		
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec ‘15	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.04.056	positief met opmerkingen	33	onbekend	1 mei ‘13	11 apr ‘12	39, 31, 15, 14	positief		1	
2012.I.04.056	positief reeds gegeven	33	onbekend	1 mei ‘13	30 mei ‘12		positief		1	
2012.I.04.056	positief voor wijziging	33	onbekend	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.I.04.056	positief voor wijziging	33	onbekend	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.04.057	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 mei ‘13		11 apr ‘12	33, 31	intentie		1	
2012.I.04.057	positief	32	1 mei ‘13	1 mei ‘13	11 apr ‘12		positief		1	
2012.I.04.057	positief voor wijziging	32	1 mei ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.04.058	intentie positief, ambt. mogelijk	29	1 mei ‘13		11 apr ‘12	4, 7, 14 15	intentie	1		
2012.I.04.058	positief	29	1 mei ‘13	1 mei ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.I.04.058	positief voor wijziging	29	1 mei ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.04.059	positief	32	1 mei ‘13	1 mei ‘13	11 apr ‘12		positief		1	
2012.I.04.059	positief voor wijziging	32	1 mei ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.04.060	positief	35	1 apr ‘13	1 mei ‘13	11 apr ‘12		positief	1		
2012.I.04.060	positief voor wijziging	35	1 apr ‘13	1 mei ‘13	15 aug ‘12		positief	1		
2012.I.04.061	positief	32	1 apr ‘13	1 mei ‘13	11 apr ‘12		positief		1	
2012.I.04.061	positief wijz. met opm. en vraag	32	1 apr ‘13	1 mei ‘13	27 jun ‘21		positief		1	
2012.I.04.061	positief reeds gegeven	32	1 apr ‘13	1 mei ‘13	15 aug ‘12		positief		1	
2012.I.05.062	positief met opmerkingen	29	2 apr ‘13	1 jun ‘13	9 mei ‘12	37, 33, 15	positief		1	
2012.I.05.062	positief reeds gegeven	29	2 apr ‘13	1 jun ‘13	30 mei ‘12		positief		1	
2012.I.05.063	intentie positief, ambt. mogelijk	37	6 mei ‘13		9 mei ‘12	31, 33, 27	intentie	1		
2012.I.05.063	positief	37	6 mei ‘13	1 jun ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.I.05.064	positief	32	31 mei ‘13	1 jun ‘13	9 mei ‘12		positief		1	
2012.I.05.065	aanhouden	32	28 dec ‘12		9 mei ‘12	9, 27, 31, 38	aanhou-den	1		
2012.I.05.065	positief met opmerking	32	28 dec ‘12	1 jun ‘13	emailronde kamer I	14	positief	1		
2012.I.05.065	positief reeds gegeven	32	28 dec ‘12	1 jun ‘13	15 aug ‘12		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.I.05.066	aanhouden, ambt. mogelijk	32	1 jul ‘13		9 mei ‘12	7	aanhou-den		1	
2012.I.05.066	positief met opmerking	32	1 jul ‘13	1 jun ‘13	ambtelijk afgehandeld	41	positief		1	
2012.I.05.067	positief met opmerkingen	32	1 mei ‘13	1 jun ‘13	9 mei ‘12	14, 41, 33, 27	positief		1	
2012.I.05.067	positief reeds gegeven	32	1 mei ‘13	1 jun ‘13	30 mei ‘12		positief		1	
2012.I.05.067	positief voor wijziging	32	1 mei ‘13	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.05.068	positief met vraag en opm.	32	onbekend	1 jun ‘13	9 mei ‘12	15, 33	positief	1		
2012.I.05.068	positief reeds gegeven	32	onbekend	1 jun ‘13	30 mei ‘12		positief	1		
2012.I.05.068	positief voor wijziging	32	onbekend	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.05.069	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 dec ‘12		9 mei ‘12	9	intentie		1	
2012.I.05.070	intentie positief, ambt. mogelijk	32	23 mei ‘13		9 mei ‘12	9, 14, 15, 33	intentie		1	
2012.I.05.070	positief	32	23 mei ‘13	1 jun ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1	1	
2012.I.05.071	positief met vragen	33	30 sep ‘14	1 jun ‘13	9 mei ‘12	39, 15, 9	positief	1		
2012.I.05.071	positief reeds gegeven	33	30 sep ‘14	1 jun ‘13	9 mei ‘12		positief	1		
2012.I.05.072	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 dec ‘12		9 mei ‘12	9, 14	intentie		1	
2012.I.05.072	positief	32	1 dec ‘12	1 jun ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.I.05.072	positief voor wijziging	32	1 dec ‘12	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.05.073	aanhouden	32	1 jun ‘14		30 mei ‘12	9, 28, 31, 33	aanhou-den	1		
2012.I.05.073	positief	32	1 jun ‘14	1 jul ‘13	27 jun ‘12		positief	1		
2012.I.05.074	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 jul ‘13		30 mei ‘12	10, 7, 27, 15, 9	intentie	1		
2012.I.05.074	positief	32	1 jul ‘13	1 jul ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.I.05.075	positief met vraag	37	30 sep ‘14	1 jun ‘13	30 mei ‘12	31	positief	1		
2012.I.05.075	positief reeds gegeven	37	30 sep ‘14	1 jun ‘13	7 nov ‘12		positief	1		
2012.I.05.076	positief met vraag		n.v.t.	1 jun ‘13	30 mei ‘12	31	positief			1
2012.I.05.076	positief reeds gegeven		n.v.t.	1 jun ‘13	15 aug ‘12		positief			1
2012.I.06.077	positief	32	1 jul ‘13	1 jul ‘13	27 jun ‘12		positief		1	
2012.I.06.078	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 jul ‘14		27 jun ‘12	8, 24, 31, 9, 15	intentie		1	
2012.I.06.078	positief	33	1 jul ‘14	1 okt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.I.06.079	positief met opmerkingen	33	2 jul ‘13	1 jul ‘13	27 jun ‘12	9, 4	positief		1	
2012.I.06.079	positief reeds gegeven	33	2 jul ‘13	1 jul ‘13	15 aug ‘12		positief		1	
2012.I.06.080	positief	32	15 okt ‘12	1 jul ‘13	27 jun ‘12		positief		1	
2012.I.06.080	positief voor wijziging	32	15 okt ‘12	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.06.081	intentie positief, ambt. mogelijk	32	10 dec ‘12		27 jun ‘12	39, 31, 33, 9, 16	intentie	1		
2012.I.06.081	positief	32	10 dec ‘12	1 aug ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.I.06.081	positief voor wijziging	32	10 dec ‘12	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.06.082	positief	32	16 jun ‘13	1 jul ‘13	27 jun ‘12		positief	1		
2012.I.06.083	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 jul ‘13		27 jun ‘12	9	intentie	1		
2012.I.06.083	positief	33	1 jul ‘13	1 aug ‘13	27 jun ‘12		positief	1		
2012.I.08.084	positief met opmerkingen	32	1 jul ‘13	1 sep ‘13	15 aug ‘12	31, 14, 33	positief	1		
2012.I.08.084	positief reeds gegeven	32	1 jul ‘13	1 sep ‘13	12 sep ‘12		positief	1		
2012.I.08.085	positief met vragen	32	31 jul ‘13	1 sep ‘13	15 aug ‘12	15, 27	positief		1	
2012.I.08.085	positief reeds gegeven	32	31 jul ‘13	1 sep ‘13	12 sep ‘12		positief		1	
2012.I.08.086	positief	37	30 sep ‘13	1 sep ‘13	15 aug ‘12		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.I.08.087	positief	37	31 aug ‘13	1 sep ‘13	15 aug ‘12		positief	1		
2012.I.08.087	positief voor wijziging	37	31 aug ‘13	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.08.088	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 sep ‘13		15 aug ‘12	19, 31	intentie		1	
2012.I.08.088	positief	32	1 sep ‘13	1 sep ‘13	15 aug ‘12		positief		1	
2012.I.08.089	intentie positief, ambt. mogelijk	32	15 aug ‘13		15 aug ‘12	31	intentie		1	
2012.I.08.089	positief	32	15 aug ‘13	1 sep ‘13	15 aug ‘12		positief		1	
2012.I.08.090	intentie positief, ambt. mogelijk	32	30 apr ‘13		15 aug ‘12	31, 14, 33, 3	intentie	1		
2012.I.08.090	positief	32	30 apr ‘13	1 sep ‘13	15 aug ‘12		positief	1		
2012.I.08.091	positief met opmerking	33	2 sep ‘13	1 sep ‘13	15 aug ‘12	31	positief		1	
2012.I.08.092	positief met voorwaarde	32	1 sep ‘14	1 sep ‘13	15 aug ‘12	37	positief	1		
2012.I.08.092	positief voor wijziging	32	1 sep ‘14	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.08.093	intentie positief, ambt. mogelijk	32	20 aug ‘13		15 aug ‘12	7, 8	intentie		1	
2012.I.08.093	positief	32	20 aug ‘13	1 sep ‘13	15 aug ‘12		positief		1	
2012.I.08.093	positief voor wijziging	32	20 aug ‘13	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.08.094	aanhouden	32	1 apr ‘13		15 aug ‘12	14, 15, 26, 31	aanhou-den		1	
2012.I.08.094	positief met opm. en voorw.	32	1 apr ‘13	1 okt ‘13	12 sep ‘12	9, 14, 38	positief		1	
2012.I.08.094	positief reeds gegeven	32	1 apr ‘13	1 okt ‘13	7 nov ‘12		positief		1	
2012.I.09.095	positief	32	23 sep ‘13	1 okt ‘13	12 sep ‘12		positief		1	
2012.I.09.095	positief voor wijziging	32	23 sep ‘13	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.I.09.096	positief met vragen	35	1 mei ‘13	1 okt ‘13	12 sep ‘12	9	positief		1	
2012.I.09.096	positief reeds gegeven	35	1 mei ‘13	1 okt ‘13	3 okt ‘12		positief		1	
2012.I.09.097	positief	35	1 sep ‘13	1 okt ‘13	12 sep ‘12		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.I.09.097	positief voor wijziging	35	1 sep ‘13	1 okt ‘13	Proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.10.098	intentie positief, ambt. mogelijk	37	31 dec ‘12		10 okt ‘12	9, 31, 28	intentie	1		
2012.I.10.098	positief	37	31 dec ‘12	1 dec ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.I.10.099	aanhouden	37	23 nov ‘12		10 okt ‘12	8, 39, 15	aanhou-den		1	
2012.I.10.099	positief met opmerking	37	23 nov ‘12	1 jan ‘15	28 nov ‘12	15	positief		1	
2012.I.10.100	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 jan ‘14		10 okt ‘12	31, 14	intentie	1		
2012.I.10.100	positief	32	1 jan ‘14	1 dec ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.I.10.101	vervallen									
2012.I.10.102	aanhouden, uit-nodiging gesprek	33	1 dec ‘12		10 okt ‘12	41, 9, 14, 15, 33	aanhou-den	1		
2012.I.10.102	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 dec ‘12		7 nov ‘12	15	intentie	1		
2012.I.10.102	positief	33	1 dec ‘12	1 dec ‘14	7 nov ‘12		positief	1		
2012.I.10.103	aanhouden	37	28 sep ‘17		10 okt ‘12	8, 14, 15	aanhou-den		1	
2012.I.10.103	positief	37	28 sep ‘17	1 dec ‘14	7 nov ‘12		positief		1	
2012.I.10.104	positief met opmerking	32	31 mrt ‘13		emailronde kamer I	41	positief		1	
2012.I.10.104	positief reeds gegeven	32	31 mrt ‘13		7 nov ‘12		positief		1	
2012.I.11.105	intentie positief, ambt. mogelijk	37	31 aug ‘15		7 nov ‘12	9	intentie		1	
2012.I.11.106	positief met opm. en voorw.	32	1 nov ‘13	1 dec ‘14	7 nov ‘12	33, 31, 37	positief	1		
2012.I.11.106	positief reeds gegeven	32	1 nov ‘13	1 dec ‘14	28 nov ‘12		positief	1		
2012.I.11.107	positief	32	1 apr ‘13	1 dec ‘14	7 nov ‘12		positief		1	
2012.I.11.108	pos. adv. met vraag, opm. en voorw.	37	1 jan ‘16	1 dec ‘15	7 nov ‘12	39, 14, 37	positief		1	
2012.I.11.109	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 nov ‘14		7 nov ‘12	39, 10, 31, 15	intentie	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.I.11.109	positief	32	1 nov ‘14	1 dec ‘14	7 nov ‘12		positief	1		
2012.I.11.110	positief met vragen	3	31 dec ‘12	1 dec ‘14	7 nov ‘12	9	positief	1		
2012.I.11.111	intentie positief, ambt. mogelijk	32	11 nov ‘13		7 nov ‘12	28, 9, 31	intentie	1		
2012.I.11.111	positief	32	11 nov ‘13	1 dec ‘14	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.I.11.112	aanhouden	32	30 nov ‘13		7 nov ‘12	14, 9, 17, 33, 15	aanhou-den	1		
2012.I.11.112	continuering aanhouden	32	30 nov ‘13		28 nov ‘12		aanhou-den	1		
2012.I.11.113	aanhouden	32	1 jan ‘15		7 nov ‘12	9, 14, 15	aanhou-den	1		
2012.I.11.113	positief met opm. en voorw.	32	1 jan ‘15	1 jan ‘15	28 nov ‘12	9, 37	positief	1		
2012.I.11.114	positief met voorwaarde	32	1 nov ‘13	1 dec ‘14	7 nov ‘12	33	positief		1	
2012.I.11.115	positief met opmerkingen	32	31 dec ‘14	1 dec ‘14	7 nov ‘12	10, 39, 33	positief		1	
2012.I.11.115	positief reeds gegeven	32	31 dec ‘14	1 dec ‘14	28 nov ‘12		positief		1	
2012.I.11.116	positief adv. C2, aanhouden C1	31	15 nov ‘14	1 dec ‘14	7 nov ‘12	31, 9, 37, 14	aanhou-den	1		
2012.I.11.117	positief met opmerking	32	1 nov ‘15	1 dec ‘14	7 nov ‘12	39	positief	1		
2012.I.11.118	positief met opmerking	37	1 nov ‘13	1 dec ‘14	7 nov ‘12	10	positief	1		
2012.I.11.119	aanhouden	32	31 okt ‘13		7 nov ‘12	42	aanhou-den		1	
2012.I.11.119	intentie positief, ambt. mogelijk	32	31 okt ‘13		28 nov ‘12	31, 27, 33	intentie		1	
2012.I.11.119	positief	32	31 okt ‘13	1 jan ‘15	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.I.12.120	positief met opmerkingen	32	1 jun ‘14	1 jan ‘15	28 nov ‘12	39, 33	positief	1		
2012.I.12.120	positief reeds gegeven	32	1 jun ‘14	1 jan ‘15	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.I.12.121	positief	37	1 jun ‘14	1 jan ‘15	28 nov ‘12		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.I.12.122	positief met opmerkingen	32	31 mei ‘13	1 jan ‘15	28 nov ‘12	7, 27, 33, 37	positief		1	
2012.I.12.123	positief met vragen	32	1 mei ‘14	1 jan ‘15	28 nov ‘12	9, 27	positief	1		
2012.I.12.124	intentie positief, ambt. mogelijk	32	1 jun ‘14		28 nov ‘12	39, 9, 27, 33	intentie	1		
2012.I.12.124	positief	32	1 jun ‘14	1 jan ‘15	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.I.12.125	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 aug ‘14		28 nov ‘12	31, 27, 18	intentie	1		
2012.I.12.125	positief	33	1 aug ‘14	1 jan ‘15	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.I.12.126	positief met opmerking	32	31 dec ‘13	1 jan ‘15	28 nov ‘12	27	positief		1	
2012.I.12.127	intentie positief, ambt. mogelijk	35	1 jan ‘15		28 nov ‘12	10, 39, 31, 18, 14, 27	intentie	1		
2012.I.12.128	intentie positief, ambt. mogelijk	37	1 dec ‘13		28 nov ‘12	14, 16	intentie	1		
2012.I.12.128	positief	37	1 dec ‘13	1 jan ‘15	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.I.12.129	positief met opmerkingen	32	6 jan ‘14	1 jan ‘15	28 nov ‘12	39, 27	positief	1		
2012.I.12.130	positief met vraag	32	1 jan ‘15	1 jan ‘15	28 nov ‘12	31	positief		1	
2012.I.12.131	positief met vra-gen en opm.	33	31 aug ‘14	1 jan ‘15	28 nov ‘12	39, 31, 27, 18	positief	1		
2012.I.12.132	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 sep ‘14		28 nov ‘12	14, 27, 33, 18, 17	intentie	1		
2012.I.12.133	intentie positief, ambt. mogelijk		14 dec ‘12		28 nov ‘12	10, 7, 39, 31	intentie	1		
2012.I.12.133	positief		14 dec ‘12	1 jan ‘15	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.I.12.134	positief met vra-gen en opm.	32	1 dec ‘14	1 jan ‘15	28 nov ‘12	10, 39, 31	positief	1		
2012.I.12.135	intentie positief, ambt. mogelijk	32	16 jan ‘14		28 nov ‘12	31, 14	intentie	1		
2012.I.12.136	pos. adv. met vraag, opm. en voorw.	29	11 mrt ‘13	1 jan ‘16	28 nov ‘12	27, 37	positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.I.12.137	positief	32	onbekend	1 dec ‘14	ambtelijk afgehandeld		positief	1		

Overzicht

Kamer II

Hart/longen,
Immunologie & Infectie,
Vaten

* Uitleg codes voorwaarden, vragen en opmerkingen etc. gesteld door de DEC aan onderzoeker

1	Verantwoordelijk onderzoeker
2	Andere regelgeving
3	Bevoegdheid/deskundigheid
4	Toezicht tijdens experiment
7	Doel onderzoek/vraagstelling
8	Belang onderzoek
9	Wetenschappelijke beoordeling
10	Ethische afweging
14	Proefopzet
15	Biotechnische handelingen
16	Anesthesie/analgesie
17	Euthanasie
18	Humane eindpunten
19	Eerst pilot uitvoeren
20	Looptijd
21	Fasering
22	Verlenging looptijd
24	Vermindering
25	Vervanging
26	Verfijning
27	Diersoort
28	Herkomst dieren
29	Schatting omvang fokoverschot
30	Bestemming overtollige dieren/hergebruik
31	Onderbouwing aantal dieren
33	Inschatting ongerief
34	Aangetast fenotype
37	(Tussentijdse) rapportage
38	Huisvesting
39	Lekensamenvattig
40	Samenwerking met derden
41	Administratief probleem
42	Opvragen pre-advies

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2007										
2007.II.02.053	positief voor terugrapportage	31	onbekend	1 sep ‘11	21 mrt ‘12	terug-rapportage				1
2007.II.03.107	positief voor wijziging	31	1 jul ‘03	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2007.II.03.107	positief voor wijziging	31	1 jul ‘03	1 mrt ‘14	proefdier-deskundige		positief			1
2007.II.06.137	positief voor wijziging	37	1 okt ‘11	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2007.II.06.137	positief voor wijziging	37	1 okt ‘11	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2007.II.10.210	positief voor wijziging		onbekend	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2008										
2008.II.03.025/ v2	positief voor wijziging	33	1 okt ‘12	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2008.II.03.037	positief voor wijziging	31	1 jul ‘08	1 aug ‘12	18 jan ‘12		positief			1
2008.II.03.037	positief voor wijziging	31	1 jul ‘08	1 aug ‘12	18 jan ‘12		positief			1
2008.II.05.041	positief voor wijziging	31	1 okt ‘11	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2008.II.05.041	positief voor wijziging	31	1 okt ‘11	1 nov ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2008.II.05.046	positief voor wijziging	31	21 mrt ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2008.II.07.068	positief reeds gegeven	36	onbekend	1 sep ‘12	15 feb ‘12		positief			1
2009										
2009.II.08.077	positief voor wijziging	37	28 feb ‘10	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2009.II.09.084	positief voor wijziging	36	31 aug ‘10	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2009.II.11.121	positief voor C2	31	1 mei ‘12	1 feb ‘13	ambtelijk afgehandeld	terugrap. C1	positief	1		
2009.II.11.121	positief voor wijziging C2	31	1 mei ‘12	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2009.II.11.130	positief voor terugraportage	37	1 dec ‘10	1 mrt ‘11	21 mrt ‘12	terug-rapportage	positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2010										
2010.II.01.006	positief voor terugrapportage	31	1 jan ‘11	1 feb ‘12	21 mrt ‘12	terug-rapportage				1
2010.II.01.010	positief voor wijziging	26	1 dec ‘10	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.II.01.013	positief voor wijziging	33	1 feb ‘11	1 feb ‘13	proefdier-deskundige			1		
2010.II.02.032	positief voor wijziging	31	1 mrt ‘11	1 mrt ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2010.II.02.032	positief voor wijziging	31	1 mrt ‘11	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.II.03.054	positief voor terugrapportage	37	1 okt ‘12	1 okt ‘12	8 feb ‘12	terug-rapportage	positief			
2010.II.03.054	positief voor wijziging	37	1 okt ‘12	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief			
2010.II.03.059	positief voor wijziging	37	31 dec ‘10	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.II.03.059	positief voor wijziging	37	31 dec ‘10	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.II.04.066	positief voor wijziging	33	1 sep ‘12	1 jul ‘12	16 mei ‘12		positief	1		
2010.II.04.077	positief voor terugrapportage	31	1 mei ‘11	1 mei ‘12	21 mrt ‘12	terug-rapportage			1	
2010.II.04.086	positief voor wijziging	31	1 mei ‘12	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.II.05.094	int. pos. voor wijz., ambt. mogelijk	37	1 jun ‘10	1 jun ‘11	18 jan ‘12		intentie		1	
2010.II.05.094	positief voor wijziging	37	1 jun ‘10	1 jun ‘12	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2010.II.05.097	positief voor wijziging	37	31 dec ‘10	1 mei ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2010.II.05.103	positief voor wijziging	31	1 jun ‘10	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.II.05.103	positief voor wijziging	31	1 jun ‘10	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.II.06.113	positief voor wijziging	33	1 jan ‘14	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.II.06.113	positief voor wijziging	33	1 jan ‘14	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2010.II.06.113	positief voor wijziging	33	1 jan ‘14	1 sep ‘13	11 jul ‘12		positief	1		
2010.II.07.126	positief voor wijziging	31	1 aug ‘11	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.II.07.126	positief voor wijziging	31	1 aug ‘11	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.II.07.126	positief voor wijziging	31	1 aug ‘11	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.II.07.126	positief voor wijziging	31	1 aug ‘11	1 aug ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.II.08.134	positief voor wijziging	33	1 sep ‘10	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2010.II.08.136	positief voor terugrapportage	5	1 nov ‘11	1 nov ‘12	17 okt ‘12	terug-rapportage			1	
2010.II.08.145	positief voor wijziging	31	onbekend	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.II.08.145	positief voor wijziging	31	onbekend	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.II.08.145	positief voor wijziging	31	onbekend	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.II.11.187	positief voor wijziging	37	31 okt ‘11	1 jan ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2010.II.11.188	positief voor wijziging	37	1 dec ‘12	1 dec ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.II.11.190	positief voor wijziging	37	30 nov ‘11	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2010.II.11.190	positief voor wijziging	37	30 nov ‘11	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2010.II.11.201	positief voor wijziging	31	1 nov ‘11	1 mrt ‘12	18 jan ‘12		positief		1	
2010.II.11.201	positief voor wijziging	31	1 nov ‘11	1 jun ‘12	18 jan ‘12		positief		1	
2010.II.11.201	positief voor wijziging	31	1 nov ‘11	1 jun ‘13	18 jan ‘12		positief		1	
2010.II.11.202	positief voor wijziging	31	1 jan ‘13	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.II.11.202	positief voor wijziging	31	1 jan ‘13	1 jan ‘14	proefdier-deskundige		positief			1
2010.II.11.206	positief voor wijziging	31	1 jan ‘11	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2010.II.11.206	positief voor wijziging	31	1 jan ‘11	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.II.11.206	positief voor wijziging	31	1 jan ‘11	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.II.11.207	positief voor wijziging	37	1 jan ‘12	1 mrt ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2010.II.12.210	positief voor wijziging	31	1 jan ‘13	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.II.12.211	positief voor wijziging	37	1 jan ‘12	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.II.12.211	positief voor wijziging	37	1 jan ‘12	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011										
2011.II.01.004	positief voor terugrapportage	33	1 feb ‘12	1 feb ‘11	18 jan ‘12	terug-rapportage	positief		1	
2011.II.01.008	positief voor wijziging	37	1 feb ‘12	1 feb ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.01.008	positief voor wijziging	37	1 feb ‘12	1 jun ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.01.009	aanhouden wijz., ambt. mogelijk	33	1 jan ‘12	1 feb ‘12	5 dec ‘12		aanhou-den		1	
2011.II.01.009	positief voor wijziging	33	1 jan ‘12	1 feb ‘12	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2011.II.01.010	positief voor wijziging	31	1 jan ‘13	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.01.013	positief voor wijziging	31	1 feb ‘12	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.01.013	positief voor wijz. met voorw.	31	1 feb ‘12	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.01.013	positief voor wijziging	31	1 feb ‘12	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.01.015	positief voor wijziging	37	1 feb ‘12	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.02.027	positief voor wijziging	37	1 mrt ‘12	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.02.027	positief voor wijziging	37	1 mrt ‘12	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.02.031	positief voor wijziging	37	1 mrt ‘12	1 jun ‘12	proefdier-deskundige		positief			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.II.02.032	positief voor wijziging	36	31 jan ‘12	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.02.034	positief voor wijziging	36	31 jan ‘12	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.02.034	positief voor wijziging	36	31 jan ‘12	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.02.041	positief voor wijziging	37	31 okt ‘11	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.02.046	positief voor wijziging	37	1 mrt ‘12	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.02.046	positief voor wijziging	37	1 mrt ‘12	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.02.047	positief voor wijziging	37	1 mrt ‘12	1 jun ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.02.047	positief voor wijziging	37	1 mrt ‘12	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.03.056	positief voor wijziging	29	1 apr ‘12	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.03.058	positief voor wijziging	31	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.03.058	positief voor wijziging	31	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.062	positief voor wijziging	31	1 apr ‘13	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.062	positief voor wijziging	31	1 apr ‘13	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.062	positief voor wijziging	31	1 apr ‘13	1 jun ‘15	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.062	positief voor wijziging	31	1 apr ‘13	1 jun ‘15	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.065	positief voor wijziging	31	1 mei ‘12	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.04.065	positief voor wijziging	31	1 mei ‘12	1 nov ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.04.066	positief voor wijziging	37	1 mei ‘12	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.04.066	positief voor wijziging	37	1 mei ‘12	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	1 mei ‘12	1 mei ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	1 mei ‘12	1 mei ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	1 mei ‘12	1 mei ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	1 mei ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	1 mei ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	1 mei ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	1 mei ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	1 mei ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	1 mei ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	1 mei ‘12	1 nov ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.070	positief voor wijziging	31	1 mrt ‘11	1 jun ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.070	positief voor wijziging	31	1 mrt ‘11	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.070	positief voor wijziging	31	1 mrt ‘11	1 jun ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.04.073	voorl.positief voor wijziging	33	1 feb ‘11	1 mei ‘12	ambtelijk afgehandeld				1	
2011.II.04.073	positief voor wijziging	33	1 feb ‘11	1 mei ‘12	21 mrt ‘12		positief		1	
2011.II.04.073	positief voor wijziging	33	1 feb ‘11	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.04.076	positief voor wijziging	37	1 mei ‘12	1 mei ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.04.076	positief voor wijziging	37	1 mei ‘12	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.05.078	positief voor wijziging	37	1 jun ‘12	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.05.079	positief voor wijziging	33	1 sep ‘16	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.05.079	positief voor wijziging	33	1 sep ‘16	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.II.05.080	positief voor wijziging	31	1 mei ‘12	2 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.05.081	positief voor wijziging	31	2 mei ‘12	2 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.05.085	positief voor wijziging	3	1 jul ‘15	1 jun ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.05.085	positief voor wijziging	3	1 jul ‘15	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.05.088	positief voor wijziging	33	1 mei ‘12	1 jun ‘13	4 jul ‘12		positief		1	
2011.II.05.088	positief voor wijziging	33	1 mei ‘12	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.05.091	positief voor wijziging	31	1 okt ‘12	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.05.091	positief voor wijziging	31	1 okt ‘12	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.05.091	positief voor wijziging	31	1 okt ‘12	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.05.091	positief voor wijziging	31	1 okt ‘12	1 jun ‘13	11 jul ‘12		positief	1		
2011.II.05.091	positief voor wijziging	31	1 okt ‘12	1 jun ‘13	11 jul ‘12		positief	1		
2011.II.05.091	positief voor wijziging	31	1 okt ‘12	1 jun ‘13	11 jul ‘12		positief	1		
2011.II.05.091	positief voor wijziging	31	1 okt ‘12	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.05.091	positief voor wijziging	31	1 okt ‘12	1 jun ‘13	14 nov ‘12		positief	1		
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	1 jun ‘12	1 jun ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	1 jun ‘12	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	1 jun ‘12	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.05.094	positief voor wijziging	37	1 jun ‘12	1 jun ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.05.097	positief voor wijziging	37	1 dec ‘11	1 jun ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.05.098	positief voor wijziging	31	1 aug ‘13	1 jun ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.II.05.098	positief voor wijziging	31	1 aug ‘13	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.06.104	positief voor pilot	31	1 jul ‘12	1 mrt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2011.II.06.107	positief voor wijziging	37	1 jun ‘12	1 jul ‘12	15 feb ‘12		positief	1		
2011.II.06.107	positief voor wijziging	37	1 jun ‘12	1 jul ‘12	15 feb ‘12		positief	1		
2011.II.06.107	positief voor wijziging	37	1 jun ‘12	1 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.06.107	positief voor wijziging	37	1 jun ‘12	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.06.107	positief voor wijziging	37	1 jun ‘12	1 aug ‘12	19 sep ‘12		positief	1		
2011.II.06.107	positief voor wijziging	37	1 jun ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.06.109	positief voor wijziging	33	1 jul ‘12	1 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.06.109	positief voor wijziging	33	1 jul ‘12	1 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.06.110	positief voor wijziging	3	1 jun ‘12	1 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.06.110	positief voor wijziging	3	1 jun ‘12	1 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.06.112	positief voor wijziging	5	1 jul ‘12	1 jul ‘12	18 jan ‘12		positief	1		
2011.II.06.112	voorl.positief voor wijziging	5	1 jul ‘12	1 jul ‘12	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2011.II.06.112	positief voor wijziging	5	1 jul ‘12	1 jul ‘12	15 feb ‘12		positief	1		
2011.II.06.112	positief voor wijziging	5	1 jul ‘12	1 jul ‘12	21 mrt ‘12		positief	1		
2011.II.06.112	positief voor wijziging	5	1 jul ‘12	1 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.06.112	positief voor wijziging	5	1 jul ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.06.112	positief voor wijziging	5	1 jul ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.06.112	positief voor wijziging	5	1 jul ‘12	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.II.07.114	positief voor wijziging	31	1 aug ‘12	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.07.114	positief voor wijziging	31	1 aug ‘12	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.08.115	positief voor wijziging	31	1 dec ‘12	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.08.116	cont. vraag, ambt. mogelijk	31	1 aug ‘12	1 okt ‘12	15 feb ‘12	9		1		
2011.II.08.116	positief	31	1 aug ‘12	1 apr ‘13	ambtelijk afgehandeld	37	positief	1		
2011.II.08.121	positief voor wijziging	37	1 sep ‘12	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.08.126	positief voor wijziging	33	1 jan ‘13	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.08.126	positief voor wijziging	33	1 jan ‘13	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.08.127	positief voor wijziging	33	1 sep ‘16	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.08.127	int. pos. adv. wijz., ambt. mogelijk	33	1 sep ‘16	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		intentie	1		
2011.II.08.127	positief voor wijziging	33	1 sep ‘16	1 dec ‘12	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2011.II.08.127	positief voor terugrapportage	33	1 sep ‘16	1 dec ‘12	19 sep ‘12		positief	1		
2011.II.08.128	positief voor wijziging	37	1 sep ‘12	1 novem-ber 2012 voor C2, C3 en C4	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.08.128	positief voor wijziging	37	1 sep ‘12	1 novem-ber 2012 voor C2, C3 en C4	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.08.128	positief voor wijziging	37	1 sep ‘12	1 septem-ber 2013 voor deel C1 en C2	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.08.128	positief voor wijziging	37	1 sep ‘12	1 septem-ber 2013 voor deel C1 en C2	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.II.08.130	positief voor wijziging	37	1 sep ‘12	1 nov ‘12	21 mrt ‘12		positief	1		
2011.II.08.130	positief voor wijziging	37	1 sep ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.08.133	positief voor wijziging		1 sep ‘12	1 sep ‘12	15 feb ‘12		positief		1	
2011.II.08.133	positief voor wijziging		1 sep ‘12	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.08.133	positief voor wijziging		1 sep ‘12	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.08.135	positief voor wijziging	12	1 mrt ‘12	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.08.135	positief voor wijziging	12	1 mrt ‘12	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.08.137	positief voor wijziging	33	1 sep ‘12	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.08.138	positief voor wijziging	33	1 sep ‘12	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.09.146	positief voor wijziging	31	1 sep ‘12	1 okt ‘11	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.09.150	positief voor wijziging	31	9 sep ‘12	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.09.151	positief voor wijziging	5	1 sep ‘12	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.09.151	positief voor wijziging	5	1 sep ‘12	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.09.151	positief voor wijziging	5	1 sep ‘12	1 okt ‘12	13 jun ‘12		positief	1		
2011.II.09.151	positief voor wijziging	5	1 sep ‘12	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.09.152	positief voor wijziging	37	1 okt ‘12	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.09.152	positief voor wijziging	37	1 okt ‘12	1 okt ‘13	17 okt ‘12		positief		1	
2011.II.09.152	positief voor wijziging	37	1 okt ‘12	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.09.153	positief voor wijziging	31	1 okt ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.09.153	positief voor wijziging	31	1 okt ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.II.09.153	positief voor wijziging	31	1 okt '12	1 nov '12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.09.153	positief voor wijziging	31	1 okt '12	1 nov '12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.10.160	positief	33	1 apr '12	1 feb '13	18 jan '12		positief	1		
2011.II.10.162	positief voor wijziging	1	1 nov '12	1 feb '13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.10.163	positief voor wijziging	33	1 nov '12	1 dec '12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.10.164	positief voor wijziging	37	1 dec '12	1 nov '12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.10.164	positief voor wijziging	37	1 dec '12	1 nov '12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.10.164	positief voor wijziging	37	1 dec '12	1 nov '12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.10.164	positief voor wijziging	37	1 dec '12	1 nov '12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.10.164	positief voor wijziging	37	1 dec '12	1 nov '12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.10.164	positief voor wijziging	37	1 dec '12	1 nov '12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.10.165	positief voor wijziging	33	1 feb '12	1 nov '12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.10.167	positief voor wijziging	31	1 nov '15	1 dec '12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.10.167	positief voor wijziging	31	1 nov '15	1 dec '13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.10.167	positief voor wijziging	31	1 nov '15	1 dec '14	5 dec '12		positief		1	
2011.II.10.167	positief voor wijziging	31	1 nov '15	1 dec '14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.10.167	positief voor wijziging	31	1 nov '15	1 dec '14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.10.168	positief voor wijziging	31	1 dec '14	1 dec '12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.10.168	positief voor wijziging	31	1 dec '14	1 dec '12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.11.173	positief voor wijziging	29	1 dec '14	1 dec '14	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.II.11.173	voorl.positief voor wijziging	29	1 dec ‘14	1 dec ‘14	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2011.II.11.173	positief voor wijziging	29	1 dec ‘14	1 dec ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.11.173	positief voor wijziging	29	1 dec ‘14	1 dec ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.11.173	voorl. cont. positief	29	1 dec ‘14	1 dec ‘14	ambtelijk afgehandeld	terug-rapportage	positief		1	
2011.II.11.173	cont. pos. adv. met voorw. en vraag	29	1 dec ‘14	1 dec ‘14	5 dec ‘12	terugrap., 37	positief		1	
2011.II.11.175	positief reeds geg. met opm.	33	1 dec ‘12	1 dec ‘12	18 jan ‘12	27	positief		1	
2011.II.11.176	positief met opmerking	31	1 jan ‘13	1 feb ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2011.II.11.176	positief voor wijziging	31	1 jan ‘13	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.11.176	positief voor wijziging	31	1 jan ‘13	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.11.177	positief	36	23 dec ‘12	1 mrt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2011.II.11.177	positief voor terugrapportage	36	23 dec ‘12	1 mrt ‘13	13 jun ‘12	terug-rapportage	positief	1		
2011.II.11.178	positief voor wijziging	31	31 okt ‘12	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.11.178	positief voor wijziging	31	31 okt ‘12	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.11.178	positief voor wijziging	31	31 okt ‘12	1 dec ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.11.180	positief reeds gegeven	1	29 feb ‘12	1 dec ‘12	15 feb ‘12		positief	1		
2011.II.11.180	positief voor wijziging	1	29 feb ‘12	1 dec ‘12	proefdiedes-kundige		positief	1		
2011.II.11.180	voorl.positief voor wijziging	1	29 feb ‘12	1 dec ‘12	proefdiedes-kundige		positief	1		
2011.II.11.180	positief voor wijziging	1	29 feb ‘12	1 dec ‘12	15 feb ‘12		positief	1		
2011.II.11.180	positief voor wijziging	1	29 feb ‘12	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.II.12.181	positief voor wijziging	36	1 nov ‘13	1 jan ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.12.182	positief voor wijziging	33	31 dec ‘12	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.12.182	positief voor wijziging	33	31 dec ‘12	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.12.183	positief	37	1 dec ‘12	1 mrt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2011.II.12.185	positief reeds gegeven	33	1 feb ‘13	1 jan ‘13	18 jan ‘12		positief	1		
2011.II.12.185	positief voor wijziging	33	1 feb ‘13	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.II.12.185	positief voor terugrapportage	33	1 feb ‘13	1 jan ‘13	18 apr ‘12	terug-rapportage	positief	1		
2011.II.12.187	positief voor wijziging	31	1 mrt ‘13	1 jan ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.12.186	positief reeds gegeven	37	1 feb ‘13	1 jan ‘13	15 feb ‘12		positief		1	
2011.II.12.186	positief voor wijziging	37	1 feb ‘13	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.12.186	positief voor wijziging	37	1 feb ‘13	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.12.186	positief voor wijziging	37	1 feb ‘13	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.II.12.186	positief voor wijziging	37	1 feb ‘13	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012										
2012.II.01.001	positief	33	1 jan ‘13	1 feb ‘13	18 jan ‘12		positief		1	
2012.II.01.001	positief voor wijziging	33	1 jan ‘13	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.01.002	positief	36	21 dec ‘12	1 feb ‘13	18 jan ‘12		positief	1		
2012.II.01.003	aanhouden	33	1 feb ‘13		18 jan ‘12	7, 8, 15	aanhou-den		1	
2012.II.01.003	positief	33	1 feb ‘13	1 mrt ‘13	15 feb ‘12		positief		1	
2012.II.01.003	positief voor wijziging	33	1 feb ‘13	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.01.003	positief voor wijziging	33	1 feb ‘13	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.01.003	positief voor wijziging	33	1 feb '13	1 mrt '13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.01.003	positief voor wijziging	33	1 feb '13	1 mrt '13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.01.003	positief voor wijziging	33	1 feb '13	1 mrt '13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.01.003	positief voor wijziging	33	1 feb '13	1 mrt '13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.01.004	positief met vraag	37	1 mrt '13	1 feb '13	18 jan '12	31	positief		1	
2012.II.01.004	cont. vraag	37	1 mrt '13	1 feb '13	15 feb '12		positief		1	
2012.II.01.004	positief reeds gegeven	37	1 mrt '13	1 feb '13	15 feb '12		positief		1	
2012.II.01.005	positief met vraag en opm.	33	onbekend	1 feb '13	18 jan '12	16, 37	positief		1	
2012.II.01.005	positief reeds gegeven	33	onbekend	1 feb '13	15 feb '12		positief		1	
2012.II.01.005	positief voor wijziging	33	onbekend	1 feb '13	15 feb '12		positief		1	
2012.II.01.006	positief	33	1 feb '13	1 feb '13	18 jan '12		positief		1	
2012.II.01.007	positief met opmerkingen	3	31 dec '12	1 feb '13	18 jan '12	39, 41, 18, 4	positief	1		
2012.II.01.007	positief reeds gegeven	3	31 dec '12	1 feb '13	21 mrt '12		positief	1		
2012.II.01.008	positief	1	31 dec '12	1 feb '13	18 jan '12		positief		1	
2012.II.01.009	positief	33	1 aug '12	1 feb '13	18 jan '12		positief		1	
2012.II.01.010	intentie positief, ambt. mogelijk	31	15 feb '13		18 jan '12	3, 31, 15, 7	intentie	1		
2012.II.01.010	positief	31	15 feb '13	1 mrt '13	18 jan '12		positief	1		
2012.II.01.011	positief met opmerking	31	15 feb '13	1 feb '13	18 jan '12	31	positief	1		
2012.II.01.011	positief reeds gegeven	31	15 feb '13	1 feb '13	15 feb '12		positief	1		
2012.II.01.012	positief met opmerking	37	1 jan '13	1 feb '13	18 jan '12	9	positief		1	
2012.II.01.013	positief	37	1 feb '13	1 feb '13	18 jan '12		positief		1	
2012.II.01.013	positief voor wijziging	37	1 feb '13	1 feb '13	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.01.014	pos. C4, aanh., ambt. C1, C2 en C3	33	1 jan ‘13	1 februari 2013 voor C4	18 jan ‘12	8, 18	aanhou-den	1		
2012.II.01.014	positief voor C1, C2 en C3	33	1 jan ‘13	1 maart 2013 voor C1, C2 en C3	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.01.015	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 jan ‘13		18 jan ‘12	7, 39, 33	intentie	1		
2012.II.01.015	positief	33	1 jan ‘13	1 mrt ‘13	18 jan ‘12		positief	1		
2012.II.01.015	positief voor terugrapportage	33	1 jan ‘13	1 mrt ‘13	22 aug ‘12	terug-rapportage	positief	1		
2012.II.01.015	positief voor terugrapportage	33	1 jan ‘13	1 mrt ‘13	19 sep ‘12	terug-rapportage	positief	1		
2012.II.01.016	positief	31	1 feb ‘13	1 feb ‘13	18 jan ‘12		positief	1		
2012.II.01.017	positief met opmerking	33	28 jun ‘12	1 feb ‘13	18 jan ‘12	16	positief		1	
2012.II.01.017	positief reeds gegeven	33	28 jun ‘12	1 feb ‘13	15 feb ‘12		positief		1	
2012.II.01.018	positief	31	1 jan ‘13	1 feb ‘13	18 jan ‘12		positief	1		
2012.II.01.018	positief voor wijziging	31	1 jan ‘13	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.01.018	positief voor wijziging	31	1 jan ‘13	1 feb ‘13	19 sep ‘12		positief	1		
2012.II.01.019	overname DEC-advies Intervet		onbekend	1 feb ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.02.020	positief met vraag en voorw.	29	25 mei ‘12	1 mrt ‘13	15 feb ‘12	37	positief		1	
2012.II.02.020	positief reeds gegeven	29	25 mei ‘12	1 mrt ‘13	21 mrt ‘12		positief		1	
2012.II.02.020	positief voor terugrapportage	29	25 mei ‘12	1 mrt ‘13	19 sep ‘12	terug-rapportage	positief		1	
2012.II.02.021	aanhouden, uit-nodiging gesprek	37	20 feb ‘13		15 feb ‘12	33, 9, 15	aanhou-den		1	
2012.II.02.021	positief met voorwaarde	37	20 feb ‘13	1 apr ‘13	21 mrt ‘12	4, 37	positief		1	
2012.II.02.022	positief	36	1 aug ‘12	1 mrt ‘13	15 feb ‘12		positief	1		
2012.II.02.022	positief	36	1 aug ‘12	1 mrt ‘13	15 feb ‘12		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.02.022	positief reeds gegeven	36	1 aug ‘12	1 mrt ‘13	21 mrt ‘12		positief	1		
2012.II.02.023	positief met opmerking			1 mrt ‘15	15 feb ‘12	33	positief			
2012.II.02.023	positief reeds gegeven			1 mrt ‘15	21 mrt ‘12		positief			
2012.II.02.024	positief met opmerking	31	1 feb ‘13	1 mrt ‘13	15 feb ‘12	31	positief		1	
2012.II.02.024	positief reeds gegeven	31	1 feb ‘13	1 mrt ‘13	21 mrt ‘12		positief		1	
2012.II.02.025	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 mrt ‘13		15 feb ‘12	31, 28, 14	intentie		1	
2012.II.02.025	positief voor pilot met vraag	31	1 mrt ‘13	1 apr ‘12	15 feb ‘12	14	positief		1	
2012.II.02.025	positief reeds gegeven	31	1 mrt ‘13	1 apr ‘12	21 mrt ‘12		positief		1	
2012.II.02.025	positief voor wijziging	31	1 mrt ‘13	1 apr ‘12	14 nov ‘12		positief		1	
2012.II.02.026	positief	37	onbekend	1 mrt ‘13	15 feb ‘12		positief		1	
2012.II.02.026	positief voor wijziging	37	onbekend	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.02.027	positief	37	onbekend	1 mrt ‘13	15 feb ‘12		positief		1	
2012.II.02.028	aanhouden	33	1 jan ‘13		15 feb ‘12	27, 9, 31, 3, 18, 15, 41	aanhou-den	1		
2012.II.02.028	positief	33	1 jan ‘13	1 apr ‘13	afgehandeld per email-ronde leden KII		positief	1		
2012.II.02.028	aanhouden voor kleine wijziging, ambtelijk afhan-delen mogelijk	33	1 jan ‘13	1 apr ‘13	16 mei ‘12		aanhou-den	1		
2012.II.02.028	cont. aanh. wijz., ambt. mogelijk	33	1 jan ‘13	1 apr ‘13	13 jun ‘12	14, 9	aanhou-den	1		
2012.II.02.028	positief voor wijziging	33	1 jan ‘13	1 apr ‘13	emailronde kamer II		positief	1		
2012.II.02.029	positief met vraag		25 feb ‘13	1 mrt ‘13	15 feb ‘12	42	positief	1		
2012.II.02.029	positief reeds gegeven		25 feb ‘13	1 mrt ‘13	21 mrt ‘12		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.02.029	positief voor wijziging		25 feb ‘13	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.02.030	positief met opm. en voorw.	29	1 mrt ‘13	1 mrt ‘13	18 apr ‘12		positief		1	
2012.II.02.030	positief reeds gegeven	29	1 mrt ‘13	1 mrt ‘13	18 apr ‘12		positief		1	
2012.II.02.030	positief voor wijziging	29	1 mrt ‘13	1 mrt ‘13	18 apr ‘12		positief		1	
2012.II.02.030	positief voor wijziging	29	1 mrt ‘15	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.02.031	positief met voorwaarde	31	15 feb ‘13	1 mrt ‘13	15 feb ‘12	15	positief	1		
2012.II.02.031	positief reeds gegeven	31	15 feb ‘13	1 mrt ‘13	21 mrt ‘12		positief	1		
2012.II.02.031	voorl.positief voor wijziging	31	15 feb ‘13	1 mrt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.02.031	positief voor wijziging	31	15 feb ‘13	1 mrt ‘13	19 sep ‘12		positief	1		
2012.II.02.032	positief met vraag en opm.	31	1 mrt ‘13	1 mrt ‘13	15 feb ‘12	14, 15	positief	1		
2012.II.02.032	positief reeds gegeven	31	1 mrt ‘13	1 mrt ‘13	21 mrt ‘12		positief	1		
2012.II.02.033	positief	37	1 mrt ‘13	1 mrt ‘13	15 feb ‘12		positief		1	
2012.II.02.033	positief voor wijziging	37	1 mrt ‘13	1 mrt ‘13	15 feb ‘12		positief		1	
2012.II.02.033	positief voor wijziging	37	1 mrt ‘13	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.02.034	positief	1	25 feb ‘13	1 mrt ‘13	15 feb ‘12		positief	1		
2012.II.02.034	positief voor wijziging	1	25 feb ‘13	1 mrt ‘13	Proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.02.034	positief voor wijziging	1	25 feb ‘13	1 mrt ‘13	Proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.02.034	positief voor wijziging	1	25 feb ‘13	1 mrt ‘13	Proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.02.034	positief voor wijziging	1	25 feb ‘13	1 mrt ‘13	Proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.02.035	positief	31	31 mei ‘12	1 mrt ‘13	15 feb ‘12		positief		1	
2012.II.02.035	positief voor wijziging	31	31 mei ‘12	1 mrt ‘13	Proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.02.035	positief voor wijziging	31	31 mei ‘12	1 mrt ‘13	Proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.02.036	intentie positief, ambt. mogelijk	1	29 jun ‘12		15 feb ‘12	9, 39	intentie	1		
2012.II.02.036	positief met voorwaarde	1	29 jun ‘12	1 jun ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.02.036	positief voor wijziging	1	29 jun ‘12	1 jun ‘13	22 aug ‘12		positief	1		
2012.II.02.037	positief	33	1 mrt ‘13	1 mrt ‘13	15 feb ‘12		positief	1		
2012.II.02.038	positief	37	1 mrt ‘14	1 mrt ‘13	15 feb ‘12		positief		1	
2012.II.02.038	positief voor wijziging	37	1 mrt ‘14	1 mrt ‘13	22 aug ‘12		positief		1	
2012.II.02.039	positief	31	1 mrt ‘13	1 mei ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.02.039	positief voor wijziging	31	1 mrt ‘13	1 mei ‘13	14 nov ‘12		positief	1		
2012.II.02.040	intentie positief, ambt. mogelijk	37	1 mrt ‘15		15 feb ‘12	42, 16	intentie	1		
2012.II.02.040	positief	37	1 mrt ‘15	1 mrt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.03.041	intentie positief, ambt. mogelijk	37	1 dec ‘12		21 mrt ‘12	14	intentie	1		
2012.II.03.041	positief	37	1 dec ‘12	1 apr ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.03.042-a	positief	1		1 mrt ‘13	15 feb ‘12		positief		1	
2012.II.03.042-b	overname DEC-advies TNO		1 mrt ‘13	1 mrt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.03.043	positief met opmerking	33	1 apr ‘13	1 apr ‘13	21 mrt ‘12	39	positief	1		
2012.II.03.043	positief reeds gegeven	33	1 apr ‘13	1 apr ‘13	16 aug ‘12		positief	1		
2012.II.03.044	positief met vraag	33	1 mrt ‘13	1 apr ‘13	21 mrt ‘12	39, 7	positief	1		
2012.II.03.044	positief reeds gegeven	33	1 mrt ‘13	1 apr ‘13	16 mei ‘12		positief	1		
2012.II.03.045	positief	37	9 nov ‘12	1 apr ‘13	21 mrt ‘12		positief	1		
2012.II.03.046	positief	33	1 apr ‘13	1 apr ‘13	21 mrt ‘12		positief		1	
2012.II.03.046	positief voor wijziging	33	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.03.047	positief met opmerking	2	1 apr ‘15	1 apr ‘13	21 mrt ‘12	41	positief		1	
2012.II.03.047	positief reeds gegeven	2	1 apr ‘15	1 apr ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.II.03.048	positief met vraag	37	16 feb ‘13	1 apr ‘13	21 mrt ‘12	15	positief		1	
2012.II.03.048	cont. vraag	37	16 feb ‘13	1 apr ‘13	18 apr ‘12		positief		1	
2012.II.03.048	positief reeds gegeven	37	16 feb ‘13	1 apr ‘13	16 mei ‘12		positief		1	
2012.II.03.048	positief voor wijziging	37	16 feb ‘13	1 apr ‘13	17 okt ‘12		positief		1	
2012.II.03.049	positief	33	1 aprill 2013	1 apr ‘13	21 mrt ‘12		positief	1		
2012.II.03.050	positief met vraag	31	1 apr ‘13	1 apr ‘13	21 mrt ‘12	7	positief		1	
2012.II.03.050	positief reeds gegeven	31	1 apr ‘13	1 apr ‘13	15 apr ‘12		positief		1	
2012.II.03.051	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 apr ‘13		21 mrt ‘12	14, 15	intentie	1		
2012.II.03.051	positief	31	1 apr ‘13	1 mei ‘13	21 mrt ‘12		positief	1		
2012.II.03.052	positief met opmerking	31	1 mei ‘13	1 apr ‘13	21 mrt ‘12	15, 28	positief		1	
2012.II.03.052	positief reeds gegeven	31	1 mei ‘13	1 apr ‘13	16 mei ‘12		positief		1	
2012.II.03.053	positief met opmerkingen	37	1 apr ‘12	1 apr ‘13	21 mrt ‘12	4, 39	positief	1		
2012.II.03.053	positief voor wijziging	37	1 apr ‘12	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.03.053	positief voor wijziging	37	1 apr ‘12	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.03.054	positief	31	31 dec ‘13	1 mei ‘13	21 mrt ‘12		positief	1		
2012.II.03.054	positief voor wijziging	31	31 dec ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.03.054	positief voor wijziging	31	31 dec ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.03.055	positief met opmerking	37	1 jul ‘13	1 mei ‘13	21 mrt ‘12	39	positief	1		
2012.II.03.055	positief reeds gegeven	37	1 jul ‘13	1 mei ‘13	18 apr ‘12		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.03.056	aanhouden, ambt. mogelijk	37	31 dec ‘12		21 mrt ‘12	9	aanhou-den	1		
2012.II.03.056	positief	37	31 dec ‘12	1 mei ‘13	21 mrt ‘12		positief	1		
2012.II.03.057	positief	12	1 sep ‘12	1 mei ‘13	21 mrt ‘12		positief		1	
2012.II.03.057	positief voor wijziging	12	1 sep ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.03.057	positief voor wijziging	12	1 sep ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.03.057	positief voor wijziging	12	1 sep ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.03.057	positief voor wijziging	12	1 sep ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.04.058	aanhouden	3	1 mei ‘13		18 apr ‘12	42	aanhou-den		1	
2012.II.04.058	aanhouden, ambt. mogelijk	3	1 mei ‘13		19 sep ‘12	39, 9	aanhou-den		1	
2012.II.04.058	positief	3	1 mei ‘13	1 dec ‘14	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.II.04.059	positief met opmerking	31	22 apr ‘13	1 mei ‘13	18 apr ‘12	14	positief		1	
2012.II.04.059	positief reeds gegeven	31	22 apr ‘13	1 mei ‘13	16 mei ‘12		positief		1	
2012.II.04.060	positief met opmerkingen	37	1 mei ‘13	1 mei ‘12	18 apr ‘12	7, 18	positief		1	
2012.II.04.060	positief reeds gegeven	37	1 mei ‘13	1 mei ‘12	16 mei ‘12		positief		1	
2012.II.04.061	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 sep ‘12		18 apr ‘12	31, 18	intentie	1		
2012.II.04.061	positief	31	1 sep ‘12	1 jun ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.04.062	intentie positief, ambt. mogelijk	33	4 jun ‘13		18 apr ‘12	10, 14, 33	intentie	1		
2012.II.04.062	positief	33	4 jun ‘13	1 jun ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.04.062	positief voor wijziging	33	4 jun ‘13	1 jun ‘13	Proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.04.062	positief voor terugrapportage	33	4 jun ‘13	1 jun ‘13	17 okt ‘12	terug-rapportage	positief	1		
2012.II.04.063	positief	3	1 mei ‘13	1 mei ‘13	18 apr ‘12		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.04.064	positief	37	1 mei ‘13	1 mei ‘13	18 apr ‘12		positief		1	
2012.II.04.065	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 jan ‘15		18 apr ‘12	8, 15, 33, 14	intentie	1		
2012.II.04.065	positief	31	1 jan ‘15	1 jun ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.04.065	positief voor wijziging	31	1 jan ‘15	1 jun ‘15	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.04.066	positief met opmerking	33	1 apr ‘13	1 mei ‘13	18 apr ‘12	33	positief		1	
2012.II.04.066	positief reeds gegeven	33	1 apr ‘13	1 mei ‘13	16 mei ‘12		positief		1	
2012.II.04.067	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 jun ‘13		18 apr ‘12	7, 41	intentie	1		
2012.II.04.067	positief	33	1 jun ‘13	1 jul ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.04.067	positief voor wijziging	33	1 jun ‘13	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.04.067	positief voor wijziging	33	1 jun ‘13	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.04.068	positief met opmerking	2	1 jun ‘13	1 mei ‘13	18 apr ‘12	15	positief	1		
2012.II.04.068	positief reeds gegeven	2	1 jun ‘13	1 mei ‘13	16 mei ‘12		positief	1		
2012.II.04.068	positief voor wijziging	2	1 jun ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.04.069	positief	33	1 apr ‘13	1 mei ‘13	18 apr ‘12		positief		1	
2012.II.04.069	positief voor wijziging	33	1 apr ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.04.069	positief voor wijziging	33	1 apr ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.04.070	aanhouden	31			18 apr ‘12	14, 33	aanhou-den	1		
2012.II.04.070	intentie positief, ambt. mogelijk	31			16 mei ‘12	14	intentie	1		
2012.II.04.070	positief voor pilot	31		1 jun ‘13	ambtelijk afgehandeld	37	positief	1		
2012.II.04.070	positief voor wijziging	31		1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.04.070	positief voor terugrapportage	31		1 jun ‘13	14 nov ‘12	terug-rapportage	positief	1		
2012.II.05.071	positief		1 mei ‘13	1 jun ‘13	16 mei ‘12		positief		1	
2012.II.05.071	positief voor wijziging		1 mei ‘13	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.05.072	positief	37	1 jun ‘13	1 jun ‘13	16 mei ‘12		positief		1	
2012.II.05.072	afgewezen voor wijziging	37	1 jun ‘13	1 jun ‘13	19 sep ‘12		ingetr/ negatief		1	
2012.II.05.073	positief	37	10/5//13	1 jun ‘13	16 mei ‘12		positief		1	
2012.II.05.074	positief met opmerking	31	31 dec ‘13	1 jun ‘13	16 mei ‘12	14	positief		1	
2012.II.05.074	positief reeds gegeven	31	31 dec ‘13	1 jun ‘13	13 jun ‘12		positief		1	
2012.II.05.074	positief voor wijziging	31	31 dec ‘13	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.05.074	positief voor wijziging	31	31 dec ‘13	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.05.075	intentie positief, ambt. mogelijk	1	1 jun ‘13		16 mei ‘12	14	intentie		1	
2012.II.05.075	positief	1	1 jun ‘13	1 jun ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.II.05.076	positief met opmerking	1	1 jun ‘13	1 jun ‘13	16 mei ‘12	9, 39	positief	1		
2012.II.05.076	positief reeds gegeven	1	1 jun ‘13	1 jun ‘13	13 jun ‘12		positief	1		
2012.II.05.077	positief	8	3 jun ‘13	1 jun ‘13	16 mei ‘12		positief	1		
2012.II.05.078	positief met opmerkingen	13	1 sep ‘12	1 jun ‘13	16 mei ‘12	39, 15, 31	positief	1		
2012.II.05.079	positief met vragen	33	15 jun ‘13	1 jun ‘13	16 mei ‘12	17	positief	1		
2012.II.05.079	positief reeds gegeven	33	15 jun ‘13	1 jun ‘13	13 jun ‘12		positief	1		
2012.II.05.080	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 mei ‘13		16 mei ‘12	31, 14	intentie	1		
2012.II.05.080	positief	33	1 mei ‘13	1 jun ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.05.080	positief voor terugrapportage	33	1 mei ‘13	1 jun ‘13	17 okt ‘12	terug-rapportage	positief	1		
2012.II.05.081	positief	10	31 dec ‘12	1 jun ‘13	16 mei ‘12	9	positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.05.081	positief voor wijziging	10	31 dec ‘12	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.06.082	positief	37	31 mei ‘13	1 jun ‘13	30 mei ‘12				1	
2012.II.06.083	positief	36	31 dec ‘12	1 jul ‘13	13 jun ‘12		positief		1	
2012.II.06.084	positief met opmerking	3	14 jun ‘13	1 jul ‘13	13 jun ‘12	39	positief		1	
2012.II.06.084	positief reeds gegeven	3	14 jun ‘13	1 jul ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.II.06.085	positief	37	30 jun ‘13	1 jul ‘13	13 jun ‘12		positief		1	
2012.II.06.085	positief voor wijziging	37	30 jun ‘13	1 jul ‘13	Proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.06.086	aanhouden	8	1 aug ‘13		13 jun ‘12	7, 8, 14, 16	aanhou-den	1		
2012.II.06.086	positief	8	1 aug ‘13	1 aug ‘13	4 jul ‘12		positief	1		
2012.II.06.087	aanhouden	8	1 aug ‘13		13 jun ‘12	7, 8, 14, 16, 18	aanhou-den	1		
2012.II.06.087	positief	8	1 aug ‘13	1 aug ‘13	4 jul ‘12		positief	1		
2012.II.06.088	intentie positief, ambt. mogelijk	37	13 jun ‘13		13 jun ‘12	31, 41	intentie	1		
2012.II.06.088	positief	37	13 jun ‘13	1 jul ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.06.088	voorl.positief voor wijziging	37	13 jun ‘13	1 jul ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.06.088	positief voor wijziging	37	13 jun ‘13	1 jul ‘13	19 sep ‘12		positief	1		
2012.II.06.088	positief voor wijziging	37	13 jun ‘13	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.06.089	positief	36	1 jul ‘12	1 jul ‘13	13 jun ‘12		positief		1	
2012.II.06.090	positief	31	2 jul ‘13	1 jul ‘13	13 jun ‘12		positief		1	
2012.II.06.090	positief voor wijziging	31	2 jul ‘13	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.07.091	positief adv. C1, aanhouden C2	37	15 jul ‘13	1 aug ‘13	4 jul ‘12	14, 8, 15, 21	positief	1		
2012.II.07.091	pos. adv. C1 al geg., cont. aanh. C2	37	15 jul ‘13	1 aug ‘13	22 aug ‘12	37	positief	1		
2012.II.07.092	positief	12	1 nov ‘13	1 aug ‘13	4 jul ‘12		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.07.093	intentie positief, ambt. mogelijk	37	31 jul ‘13		4 jul ‘12	14, 15, 16, 17	intentie	1		
2012.II.07.093	positief met opmerking	37	31 jul ‘13	1 aug ‘13	ambtelijk afgehandeld	15	positief	1		
2012.II.07.093	positief voor wijziging	37	31 jul ‘13	1 aug ‘13	Proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.07.093	positief voor wijziging	37	31 jul ‘13	1 aug ‘13	Proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.07.093	positief voor wijziging	37	31 jul ‘13	1 aug ‘13	17 okt ‘12		positief	1		
2012.II.07.093	positief voor wijziging	37	31 jul ‘13	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.07.093	positief voor wijziging	37	31 jul ‘13	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.07.094	positief met opmerkingen	12	31 mei ‘13	1 aug ‘13	4 jul ‘12	8, 15	positief	1		
2012.II.07.094	positief reeds gegeven	12	31 mei ‘13	1 aug ‘13	22 aug ‘12		positief	1		
2012.II.07.094	positief voor wijziging	12	31 mei ‘13	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.07.095	positief met opmerkingen	29	15 jul ‘13	1 aug ‘13	4 jul ‘12	14, 33, 41	positief			
2012.II.07.095	positief reeds gegeven	29	15 jul ‘13	1 aug ‘13	4 jul ‘12		positief			
2012.II.07.095	positief voor wijziging	29	15 jul ‘13	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief			
2012.II.07.096	positief met opmerkingen	33	1 sep ‘13	1 aug ‘13	4 jul ‘12	25, 37	positief	1		
2012.II.07.096	positief reeds gegeven	33	1 sep ‘13	1 aug ‘13	22 aug ‘12		positief	1		
2012.II.07.096	positief voor wijziging	33	1 sep ‘13	1 aug ‘13	22 aug ‘12		positief	1		
2012.II.07.097	positief met vraag	30	1 jul ‘13	1 aug ‘13	4 jul ‘12	7	positief			1
2012.II.07.097	positief reeds gegeven	30	1 jul ‘13	1 aug ‘13	22 aug ‘12		positief			1
2012.II.07.097	positief voor wijziging	30	1 jul ‘13	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2012.II.07.098	positief met opmerking	37	1 jan ‘13	1 aug ‘13	4 jul ‘12	39	positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.07.098	positief reeds gegeven	37	1 jan ‘13	1 aug ‘13	4 jul ‘12		positief	1		
2012.II.07.099	positief met opmerking	37	1 jul ‘12	1 aug ‘13	4 jul ‘12	39	positief		1	
2012.II.07.099	positief reeds gegeven	37	1 jul ‘12	1 aug ‘13	22 aug ‘12		positief		1	
2012.II.07.099	positief voor wijziging	37	1 jul ‘12	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.07.099	positief voor wijziging	37	1 jul ‘12	1 aug ‘13	17 okt ‘12		positief		1	
2012.II.07.100	positief	37	26 jun ‘15	1 aug ‘13	4 jul ‘12		positief		1	
2012.II.07.101	aanhouden	31	1 aug ‘13		4 jul ‘12	8, 9, 19, 33	aanhou-den	1		
2012.II.07.101	pos. adv. C1, cont. aanh. C2	31	1 aug ‘13	1 sep ‘13	22 aug ‘12	37	positief	1		
2012.II.07.101	positief voor wijziging	31	1 aug ‘13	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.07.102	positief			1 apr ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief			
2012.II.07.102	positief voor wijziging			1 apr ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief			
2012.II.07.102	positief voor wijziging			1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief			
2012.II.07.102	positief voor wijziging			1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief			
2012.II.07.103	positief	33	1 sep ‘13	1 aug ‘13	4 jul ‘12		positief		1	
2012.II.07.103	positief voor wijziging	33	1 sep ‘13	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.07.103	positief voor wijziging	33	1 sep ‘13	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.07.103	positief voor wijziging	33	1 sep ‘13	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.07.103	positief voor wijziging	33	1 sep ‘13	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.07.103	positief voor wijziging	33	1 sep ‘13	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.08.104	positief met vragen	37	1 dec ‘13	1 sep ‘13	22 aug ‘12	38, 8	positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.08.104	positief reeds gegeven	37	1 dec ‘13	1 sep ‘13	12 sep ‘12		positief	1		
2012.II.08.105	positief met vra-gen en opm.	37	14 aug ‘13	1 sep ‘13	22 aug ‘12	41, 14, 4	positief		1	
2012.II.08.105	positief reeds gegeven	37	14 aug ‘13	1 sep ‘13	19 sep ‘12		positief		1	
2012.II.08.105	positief voor wijziging	37	14 aug ‘13	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.08.105	positief voor wijziging	37	14 aug ‘13	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.08.106	positief met opmerking	37	1 sep ‘13	1 sep ‘13	22 aug ‘12	14	positief	1		
2012.II.08.106	positief reeds gegeven	37	1 sep ‘13	1 sep ‘13	19 sep ‘12		positief	1		
2012.II.08.107	aanhouden, ambt. mogelijk	37	31 aug ‘13		22 aug ‘12	7, 8	aanhou-den		1	
2012.II.08.107	positief met opmerking	37	31 aug ‘13	1 okt ‘13	ambtelijk afgehandeld	14	positief		1	
2012.II.08.107	positief voor wijziging	37	31 aug ‘13	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.08.107	positief voor wijziging	37	31 aug ‘13	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.08.108	positief	37	1 sep ‘13	1 sep ‘13	22 aug ‘12		positief		1	
2012.II.08.108	positief voor wijziging	37	1 sep ‘13	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.08.108	positief voor wijziging	37	1 sep ‘13	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.08.109	positief met opmerkingen	37	1 okt ‘13	1 sep ‘13	22 aug ‘12	15, 33	positief		1	
2012.II.08.109	positief reeds gegeven	37	1 okt ‘13	1 sep ‘13	12 sep ‘12		positief		1	
2012.II.08.110	positief	36	1 sep ‘13	1 sep ‘13	22 aug ‘12		positief	1		
2012.II.08.111	positief	33	1 sep ‘13	1 sep ‘13	22 aug ‘12		positief		1	
2012.II.08.112	positief met opmerkingen	36	1 sep ‘13	1 sep ‘13	22 aug ‘12	14, 33	positief	1		
2012.II.08.112	positief reeds gegeven	36	1 sep ‘13	1 sep ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.08.113	positief	31	3 sep ‘13	1 sep ‘13	22 aug ‘12		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.08.114	intentie positief, ambt. mogelijk	37	1 okt ‘16		22 aug ‘12	14, 26, 17	intentie	1		
2012.II.08.114	positief	37	1 okt ‘16	1 okt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.08.114	positief voor wijziging	37	1 okt ‘16	1 okt ‘13	19 sep ‘12			1		
2012.II.08.114	positief adv. wijz. met vraag en voorw.	37	1 okt ‘16	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.08.114	positief reeds geg. met vraag	37	1 okt ‘16	1 okt ‘13	17 okt ‘12	9	positief	1		
2012.II.08.114	positief reeds gegeven	37	1 okt ‘16	1 okt ‘13	14 nov ‘12		positief	1		
2012.II.08.115	positief	8	30 nov ‘12	1 sep ‘13	22 aug ‘12		positief	1		
2012.II.08.115	positief voor wijziging	8	30 nov ‘12	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.08.116	positief met opmerking	36	31 aug ‘17	1 sep ‘13	22 aug ‘12	14	positief		1	
2012.II.08.116	positief reeds gegeven	36	31 aug ‘17	1 sep ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.II.08.117	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 sep ‘13		22 aug ‘12	7, 8, 41	intentie	1		
2012.II.08.117	positief	31	1 sep ‘13	1 okt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.08.118	positief met opmerking	33	1 okt ‘13	1 okt ‘13	22 aug ‘12	14	positief		1	
2012.II.08.118	positief reeds gegeven	33	1 okt ‘13	1 okt ‘13	19 sep ‘12		positief		1	
2012.II.08.119	intentie positief, ambt. mogelijk	37	3 sep ‘13		22 aug ‘12	31	intentie		1	
2012.II.08.119	positief	37	3 sep ‘13	1 okt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.II.08.119	int. pos. adv. wijz., ambt. mogelijk	37	3 sep ‘13	1 okt ‘13	5 dec ‘12		intentie		1	
2012.II.08.119	positief voor wijziging	37	3 sep ‘13	1 okt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.II.08.120	positief met vraag en opm.	31	1 sep ‘13	1 sep ‘13	22 aug ‘12	14, 41	positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.08.120	positief reeds gegeven	31	1 sep ‘13	1 sep ‘13	19 sep ‘12		positief	1		
2012.II.08.120	afgewezen voor wijziging	31	1 sep ‘13	1 sep ‘13	14 nov ‘12	7	ingetr/ negatief	1		
2012.II.08.121	positief	37	1 dec ‘13	1 sep ‘13	22 aug ‘12		positief		1	
2012.II.08.122	positief	31	1 jan ‘15	1 sep ‘13	22 aug ‘12		positief		1	
2012.II.08.122	positief voor wijziging	31	1 jan ‘15	1 sep ‘15	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.08.123	positief	3	22 aug ‘13	1 sep ‘13	22 aug ‘12		positief		1	
2012.II.08.124	aanhouden	31	1 septme-ber 2015		22 aug ‘12	14, 33	aanhou-den		1	
2012.II.08.124	positief	31	1 septme-ber 2015	1 okt ‘13	19 sep ‘12		positief		1	
2012.II.08.124	positief voor terugrapportage	31	1 septme-ber 2015	1 okt ‘13	17 okt ‘12	terug-rapportage	positief		1	
2012.II.08.124	positief voor wijziging	31	1 septme-ber 2015	1 okt ‘13	proefdier-deskundige				1	
2012.II.08.124	positief voor wijziging	31	1 septme-ber 2015	1 okt ‘14	proefdier-deskundige				1	
2012.II.08.125	positief	12	1 sep ‘15	1 sep ‘13	22 aug ‘12		positief	1		
2012.II.08.126	intentie positief, ambt. mogelijk	8	15 dec ‘12		22 aug ‘12	31	intentie	1		
2012.II.08.126	positief	8	15 dec ‘12	1 okt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.08.126	positief voor wijziging	8	15 dec ‘12	1 okt ‘13	14 nov ‘12		positief	1		
2012.II.08.126	positief voor wijziging	8	15 dec ‘12	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.08.126	positief voor wijziging	8	15 dec ‘12	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.08.127	positief	36	31 dec ‘13	1 sep ‘13	22 aug ‘12		positief	1		
2012.II.08.128	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 sep ‘13		22 aug ‘12	31, 25, 14, 18	intentie	1		
2012.II.08.128	positief	33	1 sep ‘13	1 okt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.08.129	positief	33	3 sep ‘14	1 sep ‘13	22 aug ‘12		positief	1		
2012.II.08.130	positief	36	31 aug ‘13	1 sep ‘13	22 aug ‘12		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.08.130	positief voor wijziging	36	31 aug ‘13	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.08.131	positief	31	1 sep ‘13	1 sep ‘13	22 aug ‘12		positief	1		
2012.II.08.131	positief voor wijziging	31	1 sep ‘13	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.08.131	positief voor wijziging	31	1 sep ‘13	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.08.131	positief voor wijziging	31	1 sep ‘13	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.08.131	positief voor wijziging	31	1 sep ‘13	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.09.132	positief	12	15 sep ‘13	1 okt ‘13	19 sep ‘12		positief		1	
2012.II.09.133	aanhouden	37	1 mei ‘13		19 sep ‘12	9, 14, 15, 18	aanhou-den	1		
2012.II.09.133	intentie positief, ambt. mogelijk	37	1 mei ‘13		17 okt ‘12	37, 15	intentie	1		
2012.II.09.133	positief	37	1 mei ‘13	1 jan ‘15	17 okt ‘12		positief	1		
2012.II.09.134	positief	36	30 sep ‘13	1 okt ‘13	19 sep ‘12		positief	1		
2012.II.09.135	positief	33	1 okt ‘13	1 okt ‘13	19 sep ‘12		positief		1	
2012.II.09.135	positief voor terugrapportage	33	1 okt ‘13	1 okt ‘13	14 nov ‘12	terug-rapportage	positief		1	
2012.II.09.136	aanhouden	8			19 sep ‘12	9, 39, 15	aanhou-den	1		
2012.II.09.136	positief met vraag	8	1 nov ‘13	1 nov ‘13	17 okt ‘12	15	positief	1		
2012.II.09.136	posietief reeds geg. met opm.	8	1 nov ‘13	1 nov ‘13	5 dec ‘12	4	positief	1		
2012.II.09.137	positief met vraag en opm.	37	1 okt ‘13	1 okt ‘13	19 sep ‘12	15, 14	positief		1	
2012.II.09.137	positief reeds gegeven	37	1 okt ‘13	1 okt ‘13	7 nov ‘12		positief		1	
2012.II.09.137	positief voor wijziging	37	1 okt ‘13	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.09.137	positief voor wijziging	37	1 okt ‘13	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.09.138	positief met voorwaarde	37	1 okt ‘13	1 okt ‘13	19 sep ‘12		positief		1	
2012.II.09.138	positief voor wijziging	37	1 okt ‘13	1 okt ‘13	17 okt ‘12		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.09.139	aanhouden	33	1 nov ‘13		19 sep ‘12	1, 39, 9, 10, 18, 14	aanhou-den	1		
2012.II.09.139	cont. aanhouden	33	1 nov ‘13		17 okt ‘12		aanhou-den	1		
2012.II.09.139	aanhouden, ambt. mogelijk	33	1 nov ‘13		14 nov ‘12	9	aanhou-den	1		
2012.II.09.139	positief	33	1 nov ‘13	1 dec ‘14	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.09.140	intentie positief, ambt. mogelijk	37	1 sep ‘13		19 sep ‘12	15	intentie		1	
2012.II.09.140	positief	37	1 sep ‘13	1 nov ‘12	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.II.09.140	positief voor wijziging	37	1 sep ‘13	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.09.141	positief met opmerkingen	33	1 jun ‘13	1 okt ‘13	19 sep ‘12	10	positief		1	
2012.II.09.141	positief reeds gegeven	33	1 jun ‘13	1 okt ‘13	17 okt ‘12		positief		1	
2012.II.09.142	positief	33	1 okt ‘13	1 okt ‘13	19 sep ‘12		positief		1	
2012.II.09.143	positief met opmerking	37	1 sep ‘13	1 okt ‘13	19 sep ‘12	33	positief		1	
2012.II.09.144	positief	12	1 dec ‘14	1 okt ‘13	19 sep ‘12		positief	1		
2012.II.09.145	positief met opmerking	4	1 jun ‘13	1 okt ‘13	19 sep ‘12		positief	1		
2012.II.09.145	positief voor wijziging	4	1 jun ‘13	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.09.146	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 okt ‘13		19 sep ‘12	31,14	intentie	1		
2012.II.09.146	positief	31	1 okt ‘13	1 nov ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.09.146	positief voor wijziging	31	1 okt ‘13	1 nov ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.09.147	positief met opmerking	31	1 okt ‘13	1 okt ‘13	19 sep ‘12	39, 33	positief		1	
2012.II.09.147	positief reeds gegeven	31	1 okt ‘13	1 okt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.II.09.147	positief voor wijziging	31	1 okt ‘13	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.09.147	positief voor wijziging	31	1 okt ‘13	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.09.147	positief voor wijziging	31	1 okt ‘13	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.10.148	intentie positief, ambt. mogelijk	3	1 nov ‘13		17 okt ‘12	9, 10, 27, 33	intentie		1	
2012.II.10.148	positief	3	1 nov ‘13	1 dec ‘13	17 okt ‘12		positief		1	
2012.II.10.149	positief met opmerkingen	8	1 aug ‘13	1 nov ‘13	17 okt ‘12	14, 15, 16	positief	1		
2012.II.10.150	positief met opmerkingen	31	21 okt ‘13	1 nov ‘13	17 okt ‘12	39	positief	1		
2012.II.10.151	aanhouden	33			17 okt ‘12	41, 42	aanhou-den		1	
2012.II.10.151	positief	33		1 dec ‘14	14 nov ‘12		positief		1	
2012.II.10.152	positief met opmerkingen	13	17 okt ‘15	1 nov ‘15	17 okt ‘12	33	positief	1		
2012.II.10.153	positief met opmerkingen	37	1 nov ‘13	1 nov ‘13	17 okt ‘12	16	positief		1	
2012.II.10.153	positief reeds gegeven	37	1 nov ‘13	1 nov ‘13	14 nov ‘12		positief		1	
2012.II.10.154	intentie positief, ambt. mogelijk	37	1 jan ‘14		17 okt ‘12	39,31,28,16	intentie	1		
2012.II.10.154	positief	37	1 jan ‘14	1 dec ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.10.154	positief voor wijziging	37	1 jan ‘14	1 dec ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.10.155	intentie positief, ambt. mogelijk	37	20 nov ‘13		17 okt ‘12	39, 31, 33, 15	intentie	1		
2012.II.10.155	positief	37	20 nov ‘13	1 dec ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.10.156	intentie positief, ambt. mogelijk	12	1 nov ‘13		10 okt ‘12	42, 31	intentie		1	
2012.II.10.156	positief met opmerking	12	1 nov ‘13	1 dec ‘13	ambtelijk afgehandeld	31	positief		1	
2012.II.11.157	positief met opmerking	37	19 nov ‘13	1 dec ‘14	14 nov ‘12		positief		1	
2012.II.11.158	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 jul ‘13		14 nov ‘12	9, 14	intentie		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.11.158	positief voor pilot	31	1 jul ‘13	1 dec ‘14	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.II.11.159	aanhouden	31	1 jan ‘15		14 nov ‘12	9, 14, 31	aanhou-den		1	
2012.II.11.159	cont. aanhouden	31	1 jan ‘15		5 dec ‘12	31, 14	aanhou-den		1	
2012.II.11.160	positief	31	1 dec ‘14	1 dec ‘14	14 nov ‘12		positief		1	
2012.II.11.161	positief met vra-gen en opm.	36	1 feb ‘13	1 dec ‘14	14 nov ‘12	10, 31, 17, 33	positief	1		
2012.II.11.161	positief voor wijziging	36	1 feb ‘13	1 dec ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.11.161	positief voor wijziging	36	1 feb ‘13	1 dec ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.II.11.162	positief met opmerkingen	8	1 dec ‘14	1 dec ‘14	14 nov ‘12	33	positief	1		
2012.II.11.162	positief reeds gegeven	8	1 dec ‘14	1 dec ‘14	5 dec ‘12		positief	1		
2012.II.11.163	positief	31	1 jan ‘14	1 dec ‘13	14 nov ‘12		positief		1	
2012.II.11.164	positief met opmerkingen	33	1 jan ‘14	1 dec ‘14	14 nov ‘12	33, 16	positief	1		
2012.II.11.164	positief reeds gegeven	33	1 jan ‘14	1 dec ‘14	5 dec ‘12		positief	1		
2012.II.11.165	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 dec ‘13		14 nov ‘12	9, 14	intentie		1	
2012.II.11.165	positief	31	1 dec ‘13	1 dec ‘14	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.II.11.165	positief voor wijziging	31	1 dec ‘13	1 dec ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.II.11.166	positief met voorwaarde	29	31 mei ‘13	1 dec ‘14	14 nov ‘12	37	positief		1	
2012.II.11.167	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 apr ‘14		14 nov ‘12	9, 31, 16, 33	intentie		1	
2012.II.11.167	positief	33	1 apr ‘14	1 dec ‘14	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.II.11.168	intentie positief, ambt. mogelijk	33	1 apr ‘14		14 nov ‘12	10, 39, 31, 15, 33, 16	intentie	1		
2012.II.11.168	positief	33	1 apr ‘14	1 dec ‘14	ambtelijk afgehandeld		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.11.169	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 nov ‘15		14 nov ‘12	28,15	intentie	1		
2012.II.11.169	positief	31	1 nov ‘15	1 jan ‘15	14 nov ‘12		positief	1		
2012.II.11.170	positief met opmerking	37	1 dec ‘13	1 dec ‘14	14 nov ‘12	33	positief		1	
2012.II.11.170	positief reeds gegeven	37	1 dec ‘13	1 dec ‘14	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.II.11.171	positief	37	1 dec ‘13	1 dec ‘14	14 nov ‘12		positief		1	
2012.II.11.172	positief	33	18 dec ‘13	1 dec ‘14	14 nov ‘12		positief		1	
2012.II.12.173	aanhouden	12	1 mei ‘16		5 dec ‘12	7, 9	aanhou-den		1	
2012.II.12.174	intentie positief, ambt. mogelijk	31	1 dec ‘13		5 dec ‘12	14, 15, 31, 33	intentie	1		
2012.II.12.175	positief met vra-gen en opm.	31	1 jan ‘14	1 jan ‘15	5 dec ‘12	14, 15, 31	positief	1		
2012.II.12.176	positief met opmerkingen	37	1 jun ‘13	1 jan ‘15	5 dec ‘12	31, 33	positief		1	
2012.II.12.176	positief reeds gegeven	37	1 jun ‘13	1 jan ‘15	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.II.12.177	positief met opm. en voorw.	31	1 jan ‘15	1 jan ‘15	5 dec ‘12	15, 37	positief		1	
2012.II.12.178	positief met opmerkingen	31	1 jan ‘14	1 jan ‘15	5 dec ‘12	15, 37	positief	1		
2012.II.12.178	positief reeds gegeven	31	1 jan ‘14	1 jan ‘15	5 dec ‘12		positief	1		
2012.II.12.179	intentie positief, ambt. mogelijk	36	1 mrt ‘13		5 dec ‘12	14, 31	intentie	1		
2012.II.12.180	positief met opmerking	37	1 jan ‘14	1 jan ‘15	5 dec ‘12	3, 37	positief		1	
2012.II.12.181	aanhouden	31	1 jan ‘15		5 dec ‘12	7, 9, 15	aanhou-den		1	
2012.II.12.182	positief met opmerking	3	5 dec ‘13	1 jan ‘15	5 dec ‘12	31	positief		1	
2012.II.12.182	positief reeds gegeven	3	5 dec ‘13	1 jan ‘15	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.II.12.183	positief met opmerkingen	8	1 jan ‘14	1 jan ‘15	5 dec ‘12	39, 37	positief		1	
2012.II.12.183	positief reeds gegeven	8	1 jan ‘14	1 jan ‘15	ambtelijk afgehandeld		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.II.12.184	positief met opmerking	8	1 jan ‘14	1 jan ‘15	5 dec ‘12	31	positief	1		
2012.II.12.184	positief reeds gegeven	8	1 jan ‘14	1 jan ‘15	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.II.12.185	intentie positief, ambt. mogelijk	19	31 dec ‘13		5 dec ‘12	39, 31, 15, 14	intentie	1		
2007										
2007.III.02.019	positief adv. voor terugrap. met opm.	37	onbekend	1 jun ‘12	22 feb ‘12	terugrap., 41	positief			1
2007.III.02.019	positief voor wijziging	37	onbekend	1 jun ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2007.III.02.019	positief voor wijziging	37	onbekend	1 jun ‘12	proefdier-deskundige		positief			1

Overzicht

Kamer III

Anesthesie, Endocrinologie & Voortplanting, Epidemiologie,
Experimentele oncologie, GDL- bedrijfsvoering,
Heelkunde, Orthopedie, IRAS, Voeding,
Onderwijsaanvragen Diergeneeskunde

* Uitleg codes voorwaarden, vragen en opmerkingen etc. gesteld door de DEC aan onderzoeker

1	Verantwoordelijk onderzoeker
2	Andere regelgeving
3	Bevoegdheid/deskundigheid
4	Toezicht tijdens experiment
7	Doel onderzoek/vraagstelling
8	Belang onderzoek
9	Wetenschappelijke beoordeling
10	Ethische afweging
14	Proefopzet
15	Biotechnische handelingen
16	Anesthesie/analgesie
17	Euthanasie
18	Humane eindpunten
19	Eerst pilot uitvoeren
20	Looptijd
21	Fasering
22	Verlenging looptijd
24	Vermindering
25	Vervanging
26	Verfijning
27	Diersoort
28	Herkomst dieren
29	Schatting omvang fokoverschot
30	Bestemming overtollige dieren/hergebruik
31	Onderbouwing aantal dieren
33	Inschatting ongerief
34	Aangetast fenotype
37	(Tussentijdse) rapportage
38	Huisvesting
39	Lekensamenvattig
40	Samenwerking met derden
41	Administratief probleem
42	Opvragen pre-advies

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2007.III.02.019	positief voor wijziging	37	onbekend	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2007.III.03.053	cont. positief	29	1 aug ‘11	1 sep ‘13	21 nov ‘12	37	positief			1
2007.III.05.073	positief voor wijziging	37	1 jul ‘12	1 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2008										
2008.III.01.012	positief voor wijziging	29	1 jun ‘10	1 jun ‘10	proefdier-deskundige		positief		1	
2008.III.11.111	positief voor wijziging	37	1 nov ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2008.III.11.114	positief voor wijziging	30	1 dec ‘11	1 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2009										
2009.III.02.018	positief voor wijziging	37	1 jul ‘14	1 jul ‘14	proefdier-deskundige		positief			1
2009.III.02.018	positief voor wijziging	37	1 jul ‘14	1 jul ‘14	proefdier-deskundige		positief			1
2009.III.02.018	cont.positief met voorw.	37	1 jul ‘14	1 jul ‘14	20 jun ‘12	37	positief			1
2009.III.02.018	positief voor wijziging	37	1 jul ‘14	1 jul ‘14	20 jun ‘12		positief			1
2009.III.02.018	positief voor wijziging	37	1 jul ‘14	1 jul ‘14	proefdier-deskundige		positief			1
2009.III.02.018	positief voor wijziging	37	1 jul ‘14	1 jul ‘14	proefdier-deskundige		positief			1
2009.III.05.034	positief voor wijziging	30	1 aug ‘12	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2009.III.06.047	positief voor wijziging	30	1 jan ‘13	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2009.III.06.047	positief voor wijziging	30	1 jan ‘13	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2009.III.08.067	positief voor wijziging		onbekend	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2009.III.08.083	positief voor wijziging	29	1 aug ‘12	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2009.III.08.083	positief voor terugrapportage	29	1 aug ‘12	1 okt ‘12	26 sep ‘12	terug-rapportage	positief			1
2009.III.08.084	positief voor wijziging	29	1 aug ‘12	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief			

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2009.III.08.084	positief voor wijziging	29	1 aug ‘12	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief			
2010										
2010.III.01.013	positief voor wijziging	30	onbekend	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.01.013	positief voor wijziging	30	onbekend	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.01.013	positief voor wijziging	30	onbekend	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.02.025	positief voor wijziging	33	medio 2012	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.02.025	voorl.positief voor wijziging	33	medio 2012	1 dec ‘12	ambtelijk afgehandeld		positief			1
2010.III.02.025	positief voor wijziging	33	medio 2012	1 dec ‘12	26 sep ‘12		positief			1
2010.III.02.025	positief voor wijziging	33	medio 2012	1 dec ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.02.028	positief voor wijziging	33	1 sep ‘10	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.03.038	positief voor terugrapportage	1	1 feb ‘12	1 apr ‘12	18 jan ‘12	terug-rapportage	positief		1	
2010.III.03.039	positief voor wijziging		1 mei ‘12	1 jun ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.03.042	positief voor wijziging	33	onbekend	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.03.042	positief voor wijziging	33	onbekend	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.03.049	positief voor wijziging		1 nov ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.04.056	positief voor wijziging	33	1 mei ‘12	1 mei ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.04.056	aanhouden voor wijziging	33	1 mei ‘12	1 mei ‘12	24 okt ‘12	15, 18	aanhou-den			1
2010.III.04.056	positief voor wijz. met voorw.	33	1 mei ‘12	1 mei ‘12	21 nov ‘12	37	positief			1
2010.III.04.061	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 mei ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2010.III.04.061	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 mei ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2010.III.04.061	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2010.III.04.061	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 mei ‘13	emailronde kamer III		positief		1	
2010.III.04.061	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2010.III.04.061	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2010.III.04.061	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2010.III.06.073	positief voor wijziging	36	1 jun ‘17	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.06.073	positief voor wijziging	36	1 jun ‘17	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.06.075	positief voor wijziging	29	1 jul ‘10	1 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief			
2010.III.07.092	positief voor wijziging	30	onbekend	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.08.097	positief voor wijziging	30	onbekend	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.08.097	positief voor wijziging	30	onbekend	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.08.102	positief voor wijziging	30	1 okt ‘11	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.III.08.102	positief voor wijziging	30	1 okt ‘11	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2010.III.09.107	positief voor wijziging	36	1 nov ‘11	1 nov ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2010.III.09.109	positief voor wijziging	33	1 nov ‘11	1 nov ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2011										
2011.III.01.001	positief voor wijziging	30	1 mrt ‘12	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.01.001	positief voor terugrapportage	30	1 mrt ‘12	1 feb ‘13	21 nov ‘12	terug-rapportage	positief	1		
2011.III.01.003	positief voor wijziging	37	31 dec ‘13	1 feb ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.01.008	positief voor wijziging	36	1 sep ‘13	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.III.01.008	positief voor wijziging	36	1 sep ‘13	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.01.008	positief voor wijziging	36	1 sep ‘13	1 feb ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.01.012	positief voor wijziging	30	1 mrt ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		aanhou-den	1		
2011.III.01.012	positief voor wijziging	30	1 mrt ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.01.015	positief voor wijziging	29	1 jan ‘14	1 apr ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.02.017	positief reeds gegeven	36	1 mrt ‘12	1 mrt ‘12	22 feb ‘12		positief		1	
2011.III.02.017	positief voor wijziging	36	1 mrt ‘12	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.02.019	positief voor wijziging	36	1 feb ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.02.022	positief voor terugrapportage	37	1 mrt ‘12	1 jun ‘12	28 mrt ‘12	terug-rapportage	positief	1		
2011.III.03.027	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.03.027	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.03.029	positief voor wijziging	33	1 dec ‘11	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2011.III.03.029	positief voor wijziging	33	1 dec ‘11	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2011.III.03.029	positief voor wijziging	33	1 dec ‘11	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2011.III.03.029	positief voor wijziging	33	1 dec ‘11	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2011.III.03.029	positief voor wijziging	33	1 dec ‘11	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2011.III.03.029	positief voor wijziging	33	1 dec ‘11	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief			1
2011.III.03.029	positief voor wijz. met opm.	33	1 dec ‘11	1 feb ‘13	29 aug ‘13		positief			1
2011.III.03.029	positief voor wijziging	33	1 dec ‘11	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2011.III.03.030	positief voor wijziging	33	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.III.03.031	positief voor wijziging	33	1 apr ‘12	1 apr ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.03.034	positief voor wijziging	32	1 apr ‘12	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.03.034	positief voor wijziging	32	1 apr ‘12	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.03.034	positief voor wijziging	32	1 apr ‘12	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.04.041	positief voor wijziging	33	1 mei ‘12	1 jun ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.04.042	positief voor wijziging	5	1 mei ‘12	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.04.043	positief voor wijziging	33	1 mei ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige				1	
2011.III.04.045	positief voor wijziging	33	1 jul ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.04.049	positief voor wijziging	30	15 mei ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.04.049	positief voor wijziging	30	15 mei ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.04.050	positief voor wijziging	30	1 jun ‘12	1 mei ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.04.050	positief voor wijziging	30	1 jun ‘12	1 mei ‘13	28 mrt ‘12		positief		1	
2011.III.04.050	aanhouden wijz., ambt. mogelijk	30	1 jun ‘12	1 mei ‘13	28 mrt ‘12	9, 15, 14	aanhou-den		1	
2011.III.04.050	positief voor wijz. met opm.	30	1 jun ‘12	1 mei ‘13	25 apr ‘12	41	positief		1	
2011.III.04.051	positief voor wijziging	30	1 mei ‘12	1 jul ‘12	proefdier-deskundige				1	
2011.III.04.051	positief voor wijziging	30	1 mei ‘12	1 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.04.051	positief voor wijziging	30	1 mei ‘12	1 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.04.051	positief voor wijziging	30	1 mei ‘12	31 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.04.051	positief voor wijziging	30	1 mei ‘12	31 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.04.051	positief voor wijziging	30	1 mei ‘12	31 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.III.04.051	positief voor wijziging	30	1 mei ‘12	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.04.051	afgewezen voor wijziging	30	1 mei ‘12	1 dec ‘12	29 aug ‘12		ingetr/ negatief		1	
2011.III.05.052	positief voor terugrapportage		onbekend	18 apr ‘12	20 jun ‘12	terug-rapportage		1		
2011.III.06.055	positief voor wijziging	29	onbekend	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.06.055	positief voor wijziging	29	onbekend	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.06.056	positief voor wijziging	3	1 aug ‘12	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.06.058	positief voor wijziging	5	1 mrt ‘12	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.06.059	positief voor wijziging	33	1 jan ‘13	1 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.06.060	positief voor wijziging	5	1 aug ‘12	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.06.060	positief voor wijziging	5	1 aug ‘12	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.06.061	positief voor wijziging	33	1 dec ‘11	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.06.061	positief voor wijziging	33	1 dec ‘11	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.07.062	positief voor wijziging	13	1 mrt ‘12	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.07.063	positief voor terugrapportage	29	6 jul ‘05	1 sep ‘14	24 okt ‘12	terug-rapportage			1	
2011.III.07.064	cont. positief	29	1 aug ‘12	1 aug ‘14	29 aug ‘12	37	positief		1	
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	1 aug ‘12	1 aug ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	1 aug ‘12	1 aug ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.07.065	cont. positief	29	1 aug ‘12	1 aug ‘14	29 aug ‘12	37	positief		1	
2011.III.07.066	positief voor wijziging	29	1 aug ‘14	1 aug ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.07.066	cont. positief	29	1 aug ‘14	1 aug ‘14	11 jul ‘12	37			1	
2011.III.07.066	positief voor wijziging	29	1 aug ‘14	1 aug ‘14	proefdier-deskundige				1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.III.07.066	positief voor wijziging	29	1 aug ‘14	1 aug ‘14	proefdier-deskundige				1	
2011.III.07.067	positief voor wijziging	29	31 aug ‘14	1 aug ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.07.067	positief voor wijziging	29	31 aug ‘14	1 aug ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.07.067	positief voor wijziging	29	31 aug ‘14	1 aug ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.07.067	cont. positief	29	1 aug ‘14	1 aug ‘14	20 jun ‘12	37	positief		1	
2011.III.07.067	positief voor wijziging	29	1 aug ‘14	1 aug ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.07.067	positief voor wijziging	29	1 aug ‘14	1 aug ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.07.067	positief voor wijziging	29	1 aug ‘14	1 aug ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.07.068	cont. positief	29	1 aug ‘14	1 aug ‘14	29 aug ‘12	37	positief		1	
2011.III.07.069	voorl.positief voor wijziging	5	15 aug ‘12	1 aug ‘12	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2011.III.07.069	positief voor wijziging	5	15 aug ‘12	1 aug ‘12	11 jul ‘12		positief	1		
2011.III.07.069	positief voor wijziging	5	15 aug ‘12	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.07.069	positief voor wijziging	5	15 aug ‘12	1 aug ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.07.070	positief reeds gegeven	30	1 aug ‘12	1 aug ‘12	22 feb ‘12		positief	1		
2011.III.07.070	positief voor wijziging	30	1 aug ‘12	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.08.073	positief reeds gegeven	37	1 mrt ‘12	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.08.073	positief voor wijziging	37	1 mrt ‘12	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.07.072	positief voor wijziging		1 jul ‘12	1 jul ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.08.075	positief voor wijziging	29	1 aug ‘12	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.08.075	positief voor wijziging	29	1 aug ‘12	1 mrt ‘13	26 sep ‘12		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.III.08.075	positief voor wijziging	29	1 aug ‘12	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.08.075	voorl.positief voor wijziging	29	1 aug ‘12	1 mrt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2011.III.08.075	positief voor wijziging	29	1 aug ‘12	1 mrt ‘13	21 nov ‘12		positief	1		
2011.III.08.075	positief voor wijziging	29	1 aug ‘12	1 mrt ‘13	12 dec ‘12		positief	1		
2011.III.08.076	positief voor wijziging	3	31 aug ‘12	1 sep ‘13	24 aug ‘11		positief			1
2011.III.08.077	positief voor wijziging	30	einde 2011	1 sep ‘12	25 jan ‘12		positief		1	
2011.III.08.077	positief voor wijziging	30	einde 2011	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.08.077	positief voor wijziging	30	einde 2011	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.08.078	positief voor wijziging	30	15 sep ‘12	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.08.078	positief voor wijziging	30	15 sep ‘12	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.08.080	positief voor wijziging	5	1 sep ‘12	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.08.080	positief voor wijziging	5	1 sep ‘12	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.08.082	aanhouden voor terugrapportage	12	1 jun ‘12	1 sep ‘12	12 dec ‘12	2, 3	aanhou-den	1		
2011.III.08.088	positief voor terugrapportage	6	21 okt ‘11	1 sep ‘12	22 feb ‘12	terug-rapportage	positief	1		
2011.III.08.088	positief voor wijziging	6	21 okt ‘11	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.08.089	positief voor wijziging	33	1 aug ‘12	1 sep ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.08.090	positief voor wijziging	33	1 aug ‘12	1 jan ‘13	29 aug ‘12		positief		1	
2011.III.09.095	positief voor wijziging	29	onbekend	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.09.097	positief voor wijziging	3	1 okt ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.09.097	positief voor wijziging	3	1 okt ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.III.09.097	positief voor wijziging	3	1 okt ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.09.097	positief voor wijziging	3	1 okt ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.09.100	positief voor wijziging	33	1 aug ‘13	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.09.100	positief voor wijziging	33	1 aug ‘13	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.09.100	positief voor wijziging	33	1 aug ‘13	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.09.100	positief voor wijziging	33	1 aug ‘13	1 dec ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.09.101	positief voor wijziging	29	onbekend	1 okt ‘12	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.10.103	positief voor terugrapportage	29	1 apr ‘12	1 nov ‘12	24 okt ‘12	terug-rapportage			1	
2011.III.10.103	cont.positief met opm.	29	1 apr ‘12	1 nov ‘12	21 nov ‘12	terug-rapportage	positief		1	
2011.III.10.104	positief voor wijziging	30	1 nov ‘12	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.10.104	positief voor wijziging	30	1 nov ‘12	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.10.105	positief voor wijziging	3	1 jan ‘13	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.10.105	positief voor wijziging	3	1 jan ‘13	1 jan ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.10.105	positief voor wijziging	3	1 jan ‘13	1 jan ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.10.106	positief voor wijziging	37	1 jan ‘13	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief			
2011.III.10.107	positief voor wijziging	37	1 nov ‘14	1 nov ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.10.110	positief voor wijziging	30	1 dec ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.10.110	positief voor wijziging	30	1 dec ‘12	1 nov ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.10.111	positief voor wijziging	5	1 nov ‘12	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.10.111	positief voor wijziging	5	1 nov ‘12	1 dec ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.III.10.111	positief voor wijziging	5	1 nov '12	1 dec '12	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.10.112	positief voor wijziging	33	1 nov '12	1 nov '13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.10.112	positief voor wijziging	33	1 nov '12	1 nov '14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.10.112	positief voor wijziging	33	1 nov '12	1 nov '14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.10.113	positief voor terugrapportage	26	31 aug '12	1 nov '12	21 nov '12	terug-rapportage	positief	1		
2011.III.12.117	positief reeds gegeven	37	1 feb '13	1 jan '13	25 jan '12		positief		1	
2011.III.12.117	positief voor wijziging	37	1 feb '13	1 jan '13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.12.118	positief	12	30 jun '12	1 feb '13	25 jan '12		positief	1		
2011.III.12.118	positief voor wijziging	12	30 jun '12	1 feb '13	20 jun '12		positief	1		
2011.III.12.118	positief voor terugrapportage	12	30 jun '12	1 feb '13	12 dec '12	terug-rapportage	positief	1		
2011.III.12.119	positief reeds gegeven	36	1 jan '13	1 jan '13	25 jan '12		positief	1		
2011.III.12.119	positief voor wijziging	36	1 jan '13	1 jan '13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.12.119	positief voor wijziging	36	1 jan '13	1 jan '13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.12.119	positief voor wijziging	36	1 jan '13	1 jan '13	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.12.120	cont. int. pos., ambt. mogelijk	36	1 dec '13		2 jan '12	31	intentie	1		
2011.III.12.120	positief	36	1 dec '13	1 mrt '13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2011.III.12.122	positief voor wijziging	33	1 jan '12	1 jan '14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.12.122	positief voor wijziging	33	1 jan '12	1 jan '14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.12.123	positief reeds gegeven	37	1 mei '12	1 jan '13	22 feb '12		positief			
2011.III.12.123	positief voor wijziging	37	1 mei '12	1 jan '13	proefdier-deskundige		positief			

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.III.12.125	positief reeds gegeven	30	31 mrt ‘12	1 jan ‘13	25 jan ‘12		positief		1	
2011.III.12.125	positief voor wijziging	30	31 mrt ‘12	31 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.12.124	pos. C2+C4 opm., aangeh. C1+C3	30	31 jan ‘13	1 feb ‘13	25 jan ‘12	37	aanhou-den	1		
2011.III.12.124	positief voor wijziging	30	31 jan ‘13	1 feb ‘13	25 jan ‘12		positief	1		
2011.III.12.125	positief voor terugrapportage	30	31 mrt ‘12	1 jan ‘13	22 feb ‘12	terug-rapportage	positief		1	
2011.III.12.126	positief reeds gegeven	37	1 jan ‘14	1 jan ‘14	25 jan ‘12		positief	1		
2011.III.12.126	positief voor wijziging	37	1 jan ‘14	1 jan ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.12.126	positief voor wijziging	37	1 jan ‘14	1 jan ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.12.126	positief voor wijziging	37	1 jan ‘14	1 jan ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2011.III.12.126	afgewezen voor terugrapportage	37	1 jan ‘14	1 jan ‘14	12 dec ‘12	41	ingetr/ negatief	1		
2011.III.12.126	positief voor wijziging	37	1 jan ‘14	1 jan ‘14	proefdier-deskundige			1		
2011.III.12.127	positief reeds gegeven	30	onbekend	1 jan ‘13	25 jan ‘12		positief		1	
2011.III.12.127	positief voor wijziging	30	onbekend	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.12.127	positief voor wijziging	30	onbekend	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.12.127	positief voor wijziging	30	onbekend	1 jan ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.12.128	positief reeds gegeven	30	1 jan ‘13	1 jan ‘13	25 jan ‘12		positief		1	
2011.III.12.130	positief reeds gegeven	33	1 jan ‘13	1 jan ‘13	22 feb ‘12		positief		1	
2011.III.12.130	positief voor wijziging	33	1 jan ‘13	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.12.130	positief reeds gegeven	33	1 jan ‘13	1 jan ‘13	22 feb ‘12		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2011.III.12.130	positief voor wijziging	33	1 jan ‘13	1 jan ‘13	23 mei ‘12		positief		1	
2011.III.12.130	positief voor wijziging	33	1 jan ‘13	1 jan ‘13	20 jun ‘12		positief		1	
2011.III.12.130	positief voor wijziging	33	1 jan ‘13	1 jan ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2011.III.12.131	positief	33	1 feb ‘13	1 feb ‘13	14 dec ‘11		positief		1	
2011.III.12.131	positief voor wijziging	33	1 feb ‘13	1 feb ‘13	23 mei ‘12		positief		1	
2011.III.12.131	voorl.positief voor wijziging	33	1 feb ‘13	1 feb ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2011.III.12.131	positief voor wijziging	33	1 feb ‘13	1 feb ‘13	29 aug ‘12		positief		1	
2012										
2012.III.01.001	intentie positief, ambt. mogelijk	6	11 dec ‘12		25 jan ‘12	14	intentie	1		
2012.III.01.001	positief	6	11 dec ‘12	1 mrt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.III.01.001	positief voor wijziging	6	11 dec ‘12	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.01.001	positief voor wijziging	6	11 dec ‘12	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.01.001	positief voor wijziging	6	11 dec ‘12	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.01.001	positief voor wijziging	6	11 dec ‘12	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.01.002	intentie positief, ambt. mogelijk	33	30 jun ‘12		25 jan ‘12	9, 37, 33	intentie		1	
2012.III.01.002	positief met vraag	33	30 jun ‘12	1 mrt ‘13	25 jan ‘12	9	positief		1	
2012.III.01.002	continuering vraag	33	30 jun ‘12	1 mrt ‘13	22 feb ‘12	9	positief		1	
2012.III.01.002	positief reeds gegeven	33	30 jun ‘12	1 mrt ‘13	28 mrt ‘12		positief		1	
2012.III.01.003	positief	37	7 apr ‘12	1 feb ‘13	25 jan ‘12		positief		1	
2012.III.01.003	positief voor wijziging	37	7 apr ‘12	1 feb ‘13	25 jan ‘12		positief		1	
2012.III.01.003	positief voor wijziging	37	7 apr ‘12	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.III.01.004	intentie positief, ambt. mogelijk	11	31 dec ‘12		25 jan ‘12	41, 9, 15, 33, 4	intentie		1	
2012.III.01.004	positief	11	31 dec ‘12	1 mrt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.III.01.005	positief met vragen	30	1 feb ‘15	1 feb ‘13	25 jan ‘12	27, 9	positief		1	
2012.III.01.005	positief reeds gegeven	30	1 feb ‘15	1 feb ‘13	22 feb ‘12		positief		1	
2012.III.01.006	positief met vraag	3	25 jan ‘13	1 feb ‘13	25 jan ‘12	9	positief		1	
2012.III.01.006	positief reeds geg. met voorw.	3	25 jan ‘13	1 feb ‘13	22 feb ‘12	37	positief		1	
2012.III.01.006	positief voor wijziging	3	25 jan ‘13	1 feb ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.01.007	intentie positief, ambt. mogelijk	29	6 jan ‘13		25 jan ‘12	7, 4	intentie	1		
2012.III.01.007	positief	29	6 jan ‘13	1 feb ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.III.01.008	positief met opmerkingen	37	1 feb ‘13	1 feb ‘13	25 jan ‘12	39, 10	positief		1	
2012.III.01.008	positief reeds gegeven	37	1 feb ‘13	1 feb ‘13	22 feb ‘12		positief		1	
2012.III.01.009	intentie positief, ambt. mogelijk	37	1 feb ‘14		25 jan ‘12	39, 10, 31, 15	intentie	1		
2012.III.01.010	intentie positief, ambt. mogelijk	30	1 feb ‘13		25 jan ‘12	7	intentie		1	
2012.III.01.010	positief	30	1 feb ‘13	1 mrt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.III.02.011	positief	10	1 jun ‘12	1 mrt ‘13	22 feb ‘12		positief		1	
2012.III.02.012	positief	37	15 mrt ‘13	1 mrt ‘13	22 feb ‘12		positief	1		
2012.III.02.012	positief voor wijziging	37	15 mrt ‘13	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.02.012	positief voor wijziging	37	15 mrt ‘13	1 jan ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.02.012	positief voor wijziging	37	15 mrt ‘13	1 jan ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.02.013	intentie positief, ambt. mogelijk	30	5 mrt ‘13		22 feb ‘12	10, 14, 18	intentie	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.III.02.013	positief adveis	30	5 mrt ‘13	1 apr ‘12	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.III.02.013	positief voor wijziging	30	5 mrt ‘13	1 apr ‘12	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.02.014	positief met vraag	5	3 dec ‘12	1 mrt ‘13	22 feb ‘12	30	positief	1		
2012.III.02.014	positief reeds gegeven	5	3 dec ‘12	1 mrt ‘13	28 mrt ‘12		positief	1		
2012.III.02.014	positief voor wijziging	5	3 dec ‘12	1 mrt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.02.014	positief voor wijziging	5	3 dec ‘12	1 jan ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.02.015	intentie positief, ambt. mogelijk	30	1 apr ‘13		22 feb ‘12	39, 31, 14, 18, 15	intentie	1		
2012.III.02.015	positief	30	1 apr ‘13	1 mei ‘13	22 feb ‘12		positief	1		
2012.III.02.015	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.02.016	positief met vragen	33	31 dec ‘12	1 mrt ‘13	22 feb ‘12	8, 14, 18	positief	1		
2012.III.02.016	positief reeds geg. met opm.	33	31 dec ‘12	1 mrt ‘13	22 feb ‘12		positief	1		
2012.III.02.017	intentie positief, ambt. mogelijk	3	1 mrt ‘13		22 feb ‘12	39, 14, 15	intentie	1		
2012.III.02.017	positief	3	1 mrt ‘13	1 apr ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.III.02.017	positief voor wijziging	3	1 mrt ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.02.017	positief voor wijziging	3	1 mrt ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.02.018	intentie positief, ambt. mogelijk	30	30 apr ‘13		22 feb ‘12	14, 31, 15, 9	intentie			1
2012.III.02.018	positief	30	30 apr ‘13	1 apr ‘13	22 feb ‘12		positief			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr ‘13	1 apr ‘13	22 feb ‘12		positief			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr ‘13	1 apr ‘13	20 jun ‘12		positief		1	
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.02.018	positief voor wijz. met opm.	30	30 apr ‘13	1 apr ‘13	29 aug ‘12		positief		1	
2012.III.02.019	vervallen									
2012.III.03.020	positief	37	onbekend	1 jun ‘13	23 mei ‘12		positief		1	
2012.III.03.021	intentie positief, ambt. mogelijk	37	20 dec ‘12		28 mrt ‘12	42	intentie		1	
2012.III.03.021	positief met opmerking	37	20 dec ‘12	1 mei ‘13	ambtelijk afgehandeld	41	positief		1	
2012.III.03.022	positief met vraag	33	1 apr ‘13	1 apr ‘13	21 mrt ‘12	15	positief		1	
2012.III.03.022	positief reeds gegeven	33	1 apr ‘13	1 apr ‘13	23 mei ‘12		positief		1	
2012.III.03.023	positief	33	1 apr ‘13	1 apr ‘13	28 mrt ‘12		positief	1		
2012.III.03.024	positief met vraag	33	30 nov ‘12	1 apr ‘13	28 mrt ‘12	15	positief	1		
2012.III.03.024	positief reeds gegeven	33	30 nov ‘12	1 apr ‘13	23 mei ‘12		positief	1		
2012.III.03.025	positief	30	1 apr ‘13	1 apr ‘13	28 mrt ‘12		positief		1	
2012.III.03.025	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.03.025	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.03.025	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.03.025	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.03.025	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.03.025	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.03.025	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.03.026	intentie positief, ambt. mogelijk	4	31 jul ‘12		28 mrt ‘12	31	intentie	1		
2012.III.03.026	positief	4	31 jul ‘12	1 mei ‘13	28 mrt ‘12		positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.III.03.026	positief voor wijziging	4	31 jul ‘12	1 mei ‘13	28 mrt ‘12		positief	1		
2012.III.03.026	positief voor wijziging	4	31 jul ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.03.027	aanhouden	33	1 okt ‘13		28 mrt ‘12	8, 9, 15	aanhou-den	1		
2012.III.03.027	positief	33	1 okt ‘13	1 mei ‘13	25 apr ‘12		positief	1		
2012.III.03.027	geen voor wijzi-ging	33	1 okt ‘13	1 mei ‘13	12 dec ‘12	7, 8		1		
2012.III.03.028	positief	10	28 feb ‘14	1 apr ‘13	28 mrt ‘12		positief	1		
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb ‘14	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb ‘14	1 apr ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.03.029	positief	nb	1 jul ‘13	1 mei ‘13	25 apr ‘12		positief	1		
2012.III.03.029	positief voor wijziging	nb	1 jul ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.04.030	positief met opmerkingen	33	1 apr ‘15	1 mei ‘15	25 apr ‘12	17, 37	positief		1	
2012.III.04.030	positief reeds gegeven	33	1 apr ‘15	1 mei ‘15	23 mei ‘12		positief		1	
2012.III.04.031	intentie positief, ambt. mogelijk	30	1 jun ‘14		25 apr ‘12	14, 15			1	
2012.III.04.031	positief	30	1 jun ‘14	1 jun ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.III.04.031	pos. adv. wijz. met vraag en opm.	30	1 jun ‘14	1 jun ‘13	29 aug ‘12		positief		1	
2012.III.04.031	positief voor wijziging	30	1 jun ‘14	1 jun ‘13	29 aug ‘12		positief		1	
2012.III.04.031	positief voor wijziging	30	1 jun ‘14	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.04.032	positief met vraag	30	1 jun ‘14	1 mei ‘13	25 apr ‘12	15	positief		1	
2012.III.04.032	pos. adv. wijz. met vraag en opm.	30	1 jun ‘14	1 mei ‘13	29 aug ‘12		positief		1	
2012.III.04.032	positief voor wijziging	30	1 jun ‘14	1 mei ‘13	29 aug ‘12		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.III.04.032	positief voor wijziging	30	1 jun ‘14	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.04.033	aanhouden	5	31 mei ‘13		25 apr ‘12	7, 8, 41	aanhou-den		1	
2012.III.04.033	positief met opmerking	5	31 mei ‘13	1 jun ‘13	emailronde kamer III		positief		1	
2012.III.04.033	positief voor wijziging	5	31 mei ‘13	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.04.033	positief voor wijziging	5	31 mei ‘13	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.04.034	positief met vraag	12	31 mei ‘13	1 jun ‘13	25 apr ‘12	14	positief	1		
2012.III.04.034	positief reeds gegeven	12	31 mei ‘13	1 jun ‘13	20 jun ‘12		positief	1		
2012.III.04.035	positief met vraag	11	31 aug ‘12	1 mei ‘13	25 apr ‘12	39	positief	1		
2012.III.04.035	positief reeds gegeven	11	31 aug ‘12	1 mei ‘13	20 jun ‘12		positief	1		
2012.III.04.035	positief voor wijziging	11	31 aug ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.04.035	positief voor terugrapportage	11	31 aug ‘12	1 mei ‘13	26 sep ‘12	terug-rapportage	aanhou-den	1		
2012.III.04.036	positief met opmerking	5	28 feb ‘13	1 mei ‘13	25 apr ‘12	31	positief	1		
2012.III.04.036	positief reeds gegeven	5	28 feb ‘13	1 mei ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.III.04.036	positief voor wijziging	5	28 feb ‘13	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.04.037	aanhouden	5	15 jul ‘13		25 apr ‘12	14, 8, 18, 15	aanhou-den	1		
2012.III.04.037	pos. adv. C1 + C2 opm. en C3 aanh.	5	15 jul ‘13	1 jun ‘13	23 mei ‘12	37	aanhou-den	1		
2012.III.04.037	positief reeds gegeven	5	15 jul ‘13	1 jun ‘13	11 jul ‘12		aanhou-den	1		
2012.III.04.037	positief voor wijziging	5	15 jul ‘13	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		aanhou-den	1		
2012.III.04.037	positief voor wijziging	5	15 jul ‘13	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		aanhou-den	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.III.04.038	aanhouden	37	1 apr ‘13		25 apr ‘12	9, 14, 15	aanhou-den		1	
2012.III.04.038	positief met opmerking	37	1 apr ‘13	1 jun ‘13	23 mei ‘12	9	positief		1	
2012.III.04.038	positief reeds gegeven	37	1 apr ‘13	1 jun ‘13	11 jul ‘12		positief		1	
2012.III.04.039	positief met vraag		onbekend	1 mei ‘13	25 apr ‘12	33	positief	1		
2012.III.04.039	positief reeds gegeven		onbekend	1 mei ‘13	23 mei ‘12		positief	1		
2012.III.04.039	positief voor wijziging		onbekend	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.04.039	positief voor wijziging		onbekend	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.04.039	positief voor wijziging		onbekend	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.04.040	positief met vragen	33	1 okt ‘12	1 mei ‘13	25 apr ‘12	14, 41	intentie	1		
2012.III.04.040	positief reeds gegeven	33	1 okt ‘12	1 mei ‘13	20 jun ‘12		intentie	1		
2012.III.04.040	positief voor wijziging	33	1 okt ‘12	1 mei ‘13	proefdier-deskundige		intentie	1		
2012.III.05.041	aanhouden	37	1 jun ‘15		23 mei ‘12	14, 9, 15, 10	aanhou-den	1		
2012.III.05.041	positief	37	1 jun ‘15	1 jul ‘13	20 jun ‘12		positief	1		
2012.III.05.041	positief voor wijziging	37	1 jun ‘15	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.05.042	positief		onbekend	1 jun ‘12	ambtelijk afgehandeld		positief			
2012.III.05.043	intentie positief, ambt. mogelijk	5	1 jun ‘14		23 mei ‘12	14, 4	intentie	1		
2012.III.05.043	positief met voorwaarden	5	1 jun ‘14	1 jun ‘13	ambtelijk afgehandeld	15, 37	positief	1		
2012.III.05.043	positief reeds gegeven	5	1 jun ‘14	1 jun ‘13	11 jul ‘12		positief	1		
2012.III.05.044	positief	30	1 apr ‘13	1 jul ‘13	20 jun ‘12		positief		1	
2012.III.05.044	positief voor wijziging	30	1 apr ‘13	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.III.05.045	positief met opmerking	26	1 jun ‘15	1 jun ‘15	23 mei ‘12	37	positief		1	
2012.III.05.045	voorl.positief voor wijziging	26	1 jun ‘15	1 jun ‘15	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.III.05.045	positief voor wijziging	26	1 jun ‘15	1 jun ‘15	29 aug ‘12		positief		1	
2012.III.05.045	positief voor wijziging	26	1 jun ‘15	1 jun ‘15	29 aug ‘12		positief		1	
2012.III.05.045	positief voor wijziging	26	1 jun ‘15	1 jun ‘15	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.05.046	aanhouden	12	30 sep ‘12		23 mei ‘12	8, 14, 9	aanhou-den		1	
2012.III.05.046	positief	12	30 sep ‘12	1 jun ‘13	23 mei ‘12		positief		1	
2012.III.05.047	positief met opmerking	30	1 jun ‘13	1 jun ‘13	23 mei ‘12	41	positief	1		
2012.III.05.047	positief reeds gegeven	30	1 jun ‘13	1 jun ‘13	20 jun ‘12		positief	1		
2012.III.05.047	positief voor wijziging	30	1 jun ‘13	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.05.048	positief	36	2 sep ‘12	1 jun ‘13	23 mei ‘12		positief	1		
2012.III.05.048	positief voor wijziging	36	2 sep ‘12	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.05.048	positief voor wijziging	36	2 sep ‘12	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.05.049	positief met vraag	30	1 jun ‘13	1 jun ‘13	23 mei ‘12	9	positief		1	
2012.III.05.049	positief reeds gegeven	30	1 jun ‘13	1 jun ‘13	11 jul ‘12		positief		1	
2012.III.05.049	positief voor wijziging	30	1 jun ‘13	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.05.049	positief voor wijziging	30	1 jun ‘13	1 jun ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.05.050	positief met vraag en opm.	3	15 jun ‘13	1 jun ‘13	23 mei ‘12	15, 42	positief		1	
2012.III.05.050	positief reeds gegeven	3	15 jun ‘13	1 jun ‘13	11 jul ‘12		positief		1	
2012.III.05.051	intentie positief, ambt. mogelijk	12	31 dec ‘12		23 mei ‘12	31, 17	intentie		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.III.05.051	positief	12	31 dec ‘12	1 jul ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.III.05.051	positief voor wijziging	12	31 dec ‘12	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.05.051	positief voor terugrapportage	12	31 dec ‘12	1 jul ‘13	12 dec ‘12		positief		1	
2012.III.05.052	positief	37	1 jul ‘14	1 jun ‘13	23 mei ‘12		positief	1		
2012.III.05.053	positief	10	1 dec ‘12	1 jul ‘13	20 jun ‘12		positief		1	
2012.III.06.054	positief met voorwaarden	29	31 aug ‘15	1 jul ‘15	20 jun ‘12	37	positief		1	
2012.III.06.054	positief voor wijziging	29	31 aug ‘15	1 jul ‘15	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.06.054	positief voor wijziging	29	31 aug ‘15	1 jul ‘15	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.06.055	positief met voorwaarde	29	30 jun ‘15	1 jul ‘15	20 jun ‘12	37	positief		1	
2012.III.06.055	positief voor wijziging	29	30 jun ‘15	1 jul ‘15	21 nov ‘12		positief		1	
2012.III.06.056	aanhouden	36	21 jun ‘13		20 jun ‘12	19, 9, 37, 33, 14, 10, 31	aanhou-den	1		
2012.III.06.056	cont. aanh., uit-nodiging gesprek	36	21 jun ‘13		11 jul ‘12			1		
2012.III.06.056	continuering aanhouden	36	21 jun ‘13		11 jul ‘12	37		1		
2012.III.06.057	positief	33	1 jul ‘13	1 jul ‘13	20 jun ‘12		positief		1	
2012.III.06.058	positief	29	1 jul ‘15	1 jul ‘13	20 jun ‘12		positief		1	
2012.III.06.058	positief voor wijziging	29	1 jul ‘15	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.06.058	positief voor wijziging	29	1 jul ‘15	1 jul ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.06.059	positief	37	30 jun ‘13	1 jul ‘13	20 jun ‘12		positief		1	
2012.III.06.060	positief met opmerkingen	36	21 dec ‘12	1 aug ‘13	11 jul ‘12	33, 39, 31	positief	1		
2012.III.06.060	positief reeds gegeven	36	21 dec ‘12	1 aug ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.III.06.061	positief met vraag en opm.	3	1 feb ‘13	1 aug ‘13	11 jul ‘12	33	positief		1	
2012.III.06.061	positief reeds gegeven	3	1 feb ‘13	1 aug ‘13	26 sep ‘12		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.III.06.061	positief voor wijziging	3	1 feb '13	1 aug '13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.06.062	aanhouden, ambt. mogelijk	3	30 sep '12		11 jul '12	14, 15, 33, 30, 38, 2	aanhou-den		1	
2012.III.06.062	positief	3	30 sep '12	1 aug '13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.III.06.063	vervallen									
2012.III.07.064	positief met opm. en voorw.	30	31 dec '12	1 aug '13	11 jul '12	39	positief	1		
2012.III.07.064	positief reeds gegeven	30	31 dec '12	1 aug '13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.III.07.064	positief voor wijziging	30	31 dec '12	1 aug '13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.07.065	positief met opmerking	12	27 jul '13	1 aug '13	11 jul '12	39	positief	1		
2012.III.07.065	positief reeds gegeven	12	27 jul '13	1 aug '13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.III.07.065	positief voor wijziging	12	27 jul '13	1 aug '13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.07.065	positief voor wijziging	12	27 jul '13	1 aug '13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.07.065	positief voor wijziging	12	27 jul '13	1 aug '13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.07.065	positief voor wijziging	12	27 jul '13	1 aug '13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.07.065	positief voor wijziging	12	27 jul '13	1 aug '13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.07.066	positief met opmerking	37	31 dec '13	1 aug '13	11 jul '12	39	positief	1		
2012.III.07.066	cont. positief	37	31 dec '13	1 aug '14	11 jul '12	39	positief	1		
2012.III.07.066	positief reeds gegeven	37	31 dec '13	1 aug '14	11 jul '12		positief	1		
2012.III.07.067	positief	33	1 jul '13	1 aug '13	11 jul '12		positief		1	
2012.III.07.068	aanhouden, ambt. mogelijk	36	25 sep '12		11 jul '12	9, 7	aanhou-den		1	
2012.III.07.068	voorl.positief	36	25 sep '12	1 aug '13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.III.07.068	positief	36	25 sep '12	1 aug '13	29 aug '12		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.III.07.069	intentie positief, ambt. mogelijk	30	30 jun ‘13		11 jul ‘12	7, 39, 31	intentie	1		
2012.III.07.069	positief	30	30 jun ‘13	1 aug ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.III.07.070	positief met opmerking	33	1 jul ‘13	1 aug ‘13	11 jul ‘12	31	positief		1	
2012.III.07.070	positief reeds gegeven	33	1 jul ‘13	1 aug ‘13	29 aug ‘12		positief		1	
2012.III.07.071	positief met vra-gen en opm.	3	1 jan ‘13	1 aug ‘13	11 jul ‘12	33, 7, 9	positief		1	
2012.III.07.071	positief reeds gegeven	3	1 jan ‘13	1 aug ‘13	26 sep ‘12		positief		1	
2012.III.07.071	positief voor wijziging	3	1 jan ‘13	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.07.072	positief met vra-gen en opm.	3	1 aug ‘13	1 aug ‘13	11 jul ‘12	39, 33, 14	positief	1		
2012.III.07.072	positief reeds gegeven	3	1 aug ‘13	1 aug ‘13	26 sep ‘12		positief	1		
2012.III.07.072	positief voor wijziging	3	1 aug ‘13	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.07.072	positief voor wijziging	3	1 aug ‘13	1 aug ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.08.073	positief met vraag	9	1 aug ‘15	1 sep ‘13	29 aug ‘12	15	positief	1		
2012.III.08.073	positief reeds gegeven	9	1 aug ‘15	1 sep ‘13	29 aug ‘12		positief	1		
2012.III.08.074	positief met opmerking	37	31 dec ‘13	1 sep ‘13	29 aug ‘12	14	positief	1		
2012.III.08.074	positief reeds gegeven	37	31 dec ‘13	1 sep ‘13	26 sep ‘12		positief	1		
2012.III.08.075	positief	30	16 jul ‘13	1 sep ‘13	29 aug ‘12		positief		1	
2012.III.08.075	positief voor wijz. met voorw.	30	16 jul ‘13	1 sep ‘13	12 dec ‘12		positief		1	
2012.III.08.076	positief	10	8 aug ‘13	1 sep ‘13	29 aug ‘12		positief		1	
2012.III.08.076	positief voor wijziging	10	8 aug ‘13	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.08.076	positief voor terugrapportage	10	8 aug ‘13	1 sep ‘13	12 dec ‘12		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.III.08.076	positief voor wijziging	10	8 aug ‘13	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.08.077	positief met vraag en opm.	5	1 aug ‘13	1 sep ‘13	29 aug ‘12	17, 14	positief	1		
2012.III.08.077	positief reeds gegeven	5	1 aug ‘13	1 sep ‘13	26 sep ‘12		positief	1		
2012.III.08.078	positief met vraag	33	1 sep ‘13	1 sep ‘13	29 aug ‘12	41	positief	1		
2012.III.08.078	positief reeds gegeven	33	1 sep ‘13	1 sep ‘13	29 aug ‘12		positief	1		
2012.III.08.079	intentie positief, ambt. mogelijk	30	17 sep ‘14		29 aug ‘12	31, 4, 14, 18	intentie	1		
2012.III.08.079	positief	30	17 sep ‘14	1 okt ‘12	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.III.08.080	positief met opmerkingen	3	onbekend	1 sep ‘13	29 aug ‘12	39, 14	positief	1		
2012.III.08.080	positief reeds gegeven	3	onbekend	1 sep ‘13	26 sep ‘12		positief	1		
2012.III.08.081	positief	30	onbekend	1 sep ‘13	29 aug ‘12		positief	1		
2012.III.08.082	positief met opm. en voorw.	23	30 apr ‘13	1 sep ‘15	29 aug ‘12	33, 37	positief	1		
2012.III.08.082	positief reeds gegeven	23	30 apr ‘13	1 sep ‘15	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.III.08.082	positief voor wijziging	23	30 apr ‘13	1 sep ‘15	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.08.083	intentie positief, ambt. mogelijk	37	onbekend		29 aug ‘12	18, 4, 14	intentie	1		
2012.III.08.083	positief	37	onbekend	1 okt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.III.08.084	positief	36	30 nov ‘12	1 sep ‘13	29 aug ‘12		positief		1	
2012.III.08.084	positief voor wijziging	36	30 nov ‘12	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.08.084	positief voor wijziging	36	30 nov ‘12	1 sep ‘13	24 okt ‘12		positief		1	
2012.III.08.084	positief voor wijziging	36	30 nov ‘12	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.08.084	positief voor wijziging	36	30 nov ‘12	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.III.08.084	positief voor wijziging	36	30 nov ‘12	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.08.084	positief voor wijziging	36	30 nov ‘12	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.08.085	positief	3	29 aug ‘13	1 sep ‘13	29 aug ‘12		positief		1	
2012.III.08.085	positief voor wijziging	3	29 aug ‘13	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.08.085	positief voor wijziging	3	29 aug ‘13	1 sep ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.09.086	positief	30	1 nov ‘13	1 okt ‘13	26 sep ‘12		positief		1	
2012.III.09.087	intentie positief, ambt. mogelijk	11	30 sep ‘13		26 sep ‘12	8, 14, 15	intentie	1		
2012.III.09.087	positief	11	30 sep ‘13	1 dec ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.III.09.088	positief		onbekend	1 okt ‘13	26 sep ‘12		positief	1		
2012.III.09.088	positief voor wijziging		onbekend	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.09.089	positief met vragen	30	1 okt ‘13	1 okt ‘13	26 sep ‘12	37, 18	positief	1		
2012.III.09.089	positief reeds gegeven	30	1 okt ‘13	1 okt ‘13	21 nov ‘12		positief	1		
2012.III.09.090	positief met vragen	12	31 dec ‘13	1 okt ‘13	26 sep ‘12	14, 9	positief	1		
2012.III.09.090	positief reeds gegeven	12	31 dec ‘13	1 okt ‘13	24 okt ‘12		positief	1		
2012.III.09.091	positief met vraag en opm.		1 aug ‘15	1 okt ‘13	26 sep ‘12	8, 3	positief		1	
2012.III.09.091	positief reeds gegeven		1 aug ‘15	1 okt ‘13	21 nov ‘12		positief		1	
2012.III.09.092	positief	3	1 okt ‘13	1 okt ‘13	26 sep ‘12		positief		1	
2012.III.09.092	positief voor wijziging	3	1 okt ‘13	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.09.092	positief voor wijziging	3	1 okt ‘13	1 okt ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.09.093	positief met vragen en opm.	33	1 nov ‘13	1 okt ‘13	26 sep ‘12	39, 27	positief		1	
2012.III.09.093	positief reeds gegeven	33	1 nov ‘13	1 okt ‘13	24 okt ‘12		positief		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.III.09.094	positief met opmerkingen	33	1 okt ‘13	1 okt ‘13	26 sep ‘12	39	positief		1	
2012.III.09.094	positief reeds gegeven	33	1 okt ‘13	1 okt ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.III.09.095	positief met vragen	33	1 aug ‘13	1 okt ‘13	26 sep ‘12	41, 14	positief	1		
2012.III.09.095	positief reeds gegeven	33	1 aug ‘13	1 okt ‘13	24 okt ‘12		positief	1		
2012.III.10.096	intentie positief, ambt. mogelijk	30	1 jan ‘13		24 okt ‘12	31, 15, 14	intentie		1	
2012.III.10.097	positief met vraag en opm.	30	4 nov ‘14	1 nov ‘13	24 okt ‘12	15	positief		1	
2012.III.10.097	positief reeds gegeven	30	4 nov ‘14	1 nov ‘13	21 nov ‘12		positief		1	
2012.III.10.098	positief davies met vragen en opm.	3	1 nov ‘14	1 nov ‘14	24 okt ‘12	18, 15, 33, 14	positief		1	
2012.III.10.098	positief reeds gegeven	3	1 nov ‘14	1 nov ‘14	12 dec ‘12		positief		1	
2012.III.10.098	positief voor wijziging	3	1 nov ‘14	1 nov ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.10.098	positief voor wijziging	3	1 nov ‘14	1 nov ‘14	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.10.099	positief met vraag	3	1 nov ‘13	1 nov ‘13	24 okt ‘12	17	positief		1	
2012.III.10.099	positief reeds gegeven	3	1 nov ‘13	1 nov ‘13	12 dec ‘12		positief		1	
2012.III.10.099	positief voor wijziging	3	1 nov ‘13	1 nov ‘13	proefdier-deskundige		positief		1	
2012.III.10.100	positief met vragen	33	31 okt ‘14	1 nov ‘13	24 okt ‘12	27, 9	positief		1	
2012.III.10.100	positief reeds gegeven	33	31 okt ‘14	1 nov ‘13	21 nov ‘12		positief		1	
2012.III.10.101	intentie positief, ambt. mogelijk	36	4 okt ‘13		24 okt ‘12	39, 10, 9, 15, 14	intentie		1	
2012.III.10.101	positief	36	4 okt ‘13	1 dec ‘13	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.III.10.102	intentie positief, ambt. mogelijk	30	31 okt ‘14		24 okt ‘12	39, 10, 31, 15	intentie	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.III.10.102	positief	30	31 okt ‘14	1 jan ‘15	ambtelijk afgehandeld		positief	1		
2012.III.10.103	intentie positief, ambt. mogelijk	30	1 dec ‘13		24 okt ‘12	31, 15, 14	intentie	1		
2012.III.10.104	intentie positief, ambt. mogelijk	30	30 nov ‘14		24 okt ‘12	39, 31, 15, 33, 14	intentie	1		
2012.III.11.105	positief		onbekend	1 dec ‘15	21 nov ‘12		positief		1	
2012.III.11.106	positief met opmerkingen	37	1 okt ‘13	1 dec ‘14	21 nov ‘12	41, 37	positief		1	
2012.III.11.106	positief reeds gegeven	37	1 okt ‘13	1 dec ‘14	21 nov ‘12		positief		1	
2012.III.11.117	positief	9	1 nov ‘15	1 dec ‘14	21 nov ‘12		positief	1		
2012.III.11.118	intentie positief, ambt. mogelijk	30	1 jan ‘15		21 nov ‘12	9	intentie		1	
2012.III.11.118	positief	30	1 jan ‘15	1 jan ‘15	ambtelijk afgehandeld		positief		1	
2012.III.11.118	positief voor terugrapportage	30	1 jan ‘15	1 jan ‘15	12 dec ‘12		positief		1	
2012.III.11.119	positief met opmerkingen	30	31 dec ‘14	1 dec ‘14	21 nov ‘12	9	positief	1		
2012.III.11.119	positief reeds gegeven	30	31 dec ‘14	1 dec ‘14	12 dec ‘12		positief	1		
2012.III.11.120	positief met opm. en voorw.	37	1 dec ‘15	1 dec ‘15	21 nov ‘12	14, 17, 37	positief	1		
2012.III.11.121	positief met opmerking	26	31 mrt ‘13	1 dec ‘14	21 nov ‘12	39	positief	1		
2012.III.11.121	positief reeds gegeven	26	31 mrt ‘13	1 dec ‘14	12 dec ‘12		positief	1		
2012.III.11.121	positief voor wijziging	26	31 mrt ‘13	1 dec ‘14	proefdier-deskundige		positief	1		
2012.III.11.122	positief	37	1 jan ‘16	1 dec ‘14	21 nov ‘12		positief	1		
2012.III.11.123	positief	30	1 dec ‘13	1 dec ‘14	21 nov ‘12		positief		1	
2012.III.11.124	intentie positief, ambt. mogelijk	30	1 jan ‘15		21 nov ‘12	31, 33, 41	intentie		1	
2012.III.11.124	positief	30	1 jan ‘15	1 jan ‘15	21 nov ‘12		positief		1	
2012.III.12.125	aanhouden	22	30 apr ‘13		12 dec ‘12		aanhou-den	1		
2012.III.12.126	positief met voorwaarde	3	1 dec ‘13	1 jan ‘15	12 dec ‘12	4	positief	1		

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldig-heid	bespreking	voorwaarden/ opmerkingen	advies DEC	nieuw	vervolg	herhaald
2012.III.12.127	positief met opmerkingen	30	1 dec ‘13	1 jan ‘15	12 dec ‘12	31, 39	positief	1		
2012.III.12.128	intentie positief, ambt. mogelijk	30	1 jan ‘15		12 dec ‘12	14, 15, 18, 39	intentie		1	
2012.III.12.129	positief met opmerkingen	33	1 jan ‘14	1 jan ‘15	12 dec ‘12	7, 14, 15, 18, 31, 39	positief		1	
2012.III.12.130	positief	33	1 jan ‘14	1 jan ‘15	12 dec ‘12		positief		1	
2012.III.12.131	positief met vraag	37	31 dec ‘13	1 jan ‘15	12 dec ‘12	15	positief	1		
2012.III.12.132	intentie positief, ambt. mogelijk	30	onbekend		12 dec ‘12	10, 14, 31	intentie	1		
2012.III.12.133	afgewezen voor vervolgaanvraag	29	1 dec ‘13		12 dec ‘12	37	ingetr/ negatief		1	
2012.III.12.134	positief met opmerkingen	33	12 jun ‘13	1 jan ‘15	12 dec ‘12	4, 39	positief		1	
2012.III.12.135	intentie positief, ambt. mogelijk	30	7 jan ‘15		12 dec ‘12	31, 39, 14, 15	intentie	1		
2012.III.12.136	pos. adv. C1 met opm., aanh. C2	33	28 feb ‘15	1 januari 2015 (C1)	12 dec ‘12	31, 14, 19	aanhou-den		1	
2012.III.12.137	positief met vraag	30	1 jan ‘15	1 jan ‘15	12 dec ‘12	14	positief		1	
2012.III.12.138	positief met opmerkingen	29	1 jun ‘16	1 jan ‘15	12 dec ‘12	14, 15	positief		1	

Jaarverslag 2012

Dierexperimentencommissie Utrecht

voor vergunninghouders Universiteit Utrecht

en Universitair Medisch Centrum Utrecht

en een aantal kleinere vergunninghouders



Universitair Medisch Centrum
Utrecht



Universiteit Utrecht