

Jaarverslag 2013

Dierexperimentencommissie Utrecht

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

Colofon

Uitgave 2014
Dierexperimentencommissie Utrecht
P/a Universitair Medisch Centrum Utrecht
Huispost D01.343
Heidelberglaan 100
3584 CX Utrecht

Redactie
S. Oosterhoff

Fotografie
T. Dobber en Ch. Timmers, UMC Utrecht, Facilitair Bedrijf, cluster Multimedia

Foto voorkant: T. Dobber

Vormgeving
Zweers Creatives • www.zweerscreatives.nl

© 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 fotokopiëren, opnamen of op enige andere manier, zonder voorafgaande schriftelijk toestemming van de uitgever.

Jaarverslag 2013

Dierexperimentencommissie Utrecht

voor vergunninghouders

Universiteit Utrecht

Universitair Medisch Centrum Utrecht

een aantal kleinere vergunninghouders

Inhoudsopgave

Deel 1 – Jaarverslag

Voorwoord 1
1. Inleiding 5
2. Plaats van de DEC Utrecht in de om advies vragende organisaties 6
3. Taakomschrijving DEC 7
4. Samenstelling en werkwijze commissie 8
5. Vergaderingen: regulier en gezamenlijk 9
6. Scholing 10
7. Het bureau van de DEC 11
8. Kring waarvoor de commissie toetst 11
9. Financiering 11
10. Protocollen 12

Bijlage 1.1 – Reglement DEC 35
Bijlage 1.2 – Samenstelling DEC Utrecht 41

Deel 2 – Lekensamenvattingen

Kamer I 45
Kamer II 125
Kamer III 227

Deel 3 – Overzicht behandelde DEC-aanvragen 2013

Kamer I 307
Kamer II 329
Kamer III 355



Voorwoord

Geachte lezer,

Sinds 2010 is er een nieuwe Europese richtlijn voor dierproeven. Alle Europese lidstaten moeten deze richtlijn verwerken in hun nationale wet- en regelgeving. In Nederland zal dit gebeuren door de huidige Wet op de dierproeven (Wod) te wijzigen. Deze gewijzigde Wet op de dierproeven had op 1 januari 2013 in werking moeten treden. Helaas is het de wetgever niet gelukt de gewijzigde Wod op tijd ingevoerd te krijgen. Op 10 december 2013 is de gewijzigde Wod aangenomen door de Tweede Kamer. Plenaire behandeling in de Eerste Kamer en publicatie in de Staatscourant is wat nu nog rest. Het ziet er dus naar uit dat 2014 een jaar gaat worden waarin het een en ander zal gaan veranderen voor wat betreft de opzet, samenstelling en werkwijze van de dierexperimentencommissies in Nederland. De DEC Utrecht heeft al de nodige voorbereidingen getroffen zodat de overgang straks zo soepel mogelijk verloopt.

Voor U ligt dan ook het laatste jaarverslag van de Dier Experimenten Commissie (DEC) Utrecht, ingesteld door de Universiteit Utrecht en het Universitair Medisch Centrum Utrecht, in deze vorm. Het verslag is een verantwoording van de activiteiten van de DEC Utrecht over het jaar 2013. 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. 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

“For the progress of humane techniques the law should be kept fully rational and up to date. It cannot be too widely recognized that legislation and regulation need constant attention.”

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.L. Burch.

1

Jaarverslag



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 DEC 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 Economische Zaken. 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 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 2013 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, 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 2013 is de DEC Utrecht 36 maal bijeen geweest, dat wil zeggen dat iedere Kamer 12 maal (1 maal per maand) projecten heeft beoordeeld. Daarnaast hebben er drie gezamenlijke DEC-vergaderingen plaats gevonden. Tijdens deze bijzondere DEC-vergaderingen 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 vorige verslag, beoordeling van nieuwe aanvragen en vervolgaanvragen, beoordeling van reacties op vragen van de Kamer, beoordelen aanvragen voor kleine wijzigingen 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 6 februari 2013 zijn o.a. de volgende zaken aan de orde gesteld:

- Extern en intern lid DEC, Diermodellen: het moet beter
- Student Environmental Biology, Universiteit Utrecht, master scriptie. De eigen ethische afweging: analyse en conclusies

Tijdens het gezamenlijk overleg op 15 mei 2013 zijn o.a. de volgende zaken aan de orde gesteld:

- Vervanging van het C-deel door het nieuwe werkprotocol.
- Beleid m.b.t. surplus dieren.

Tijdens het gezamenlijk overleg op 2 oktober 2013 zijn o.a. de volgende zaken aan de orde gesteld:

- Medewerker UMC, Vertaling van dierstudies naar de kliniek
- Extern en intern lid DEC, Translationele robuustheid en translatie strategie

De bijeenkomsten waren 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:

- FELASA, Barcelona
- Biotechnische dagen
- BCLAS symposium, België
- SLiM symposia, TNO
- Master neuroscience and cognition, UU
- Symposium ‘Grip on complexity’, NWO-KNAW
- De cursus ‘The Auditing Course’, Research Quality Association
- Symposium ‘Ethische toetsing in de keten van de gezondheidszorg: van dierproeven naar onderzoek met mensen’, Dialoog
- Cursus proefdierkunde (art. 9 cursus), UU
- The International Behavioral Neuroscience Society (IBNS), Ireland 2013 Society for Neuroscience meeting (SFN), San Diego 2013

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 2013 is er geen nieuwsbrief verzonden.

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 plaatsvindt 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 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 is deze specifieke vraag geëvalueerd (studentenproject).

- Wetenschappelijke kwaliteit van het onderzoek: Is dit gewaarborgd en door wie?
- 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): 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.

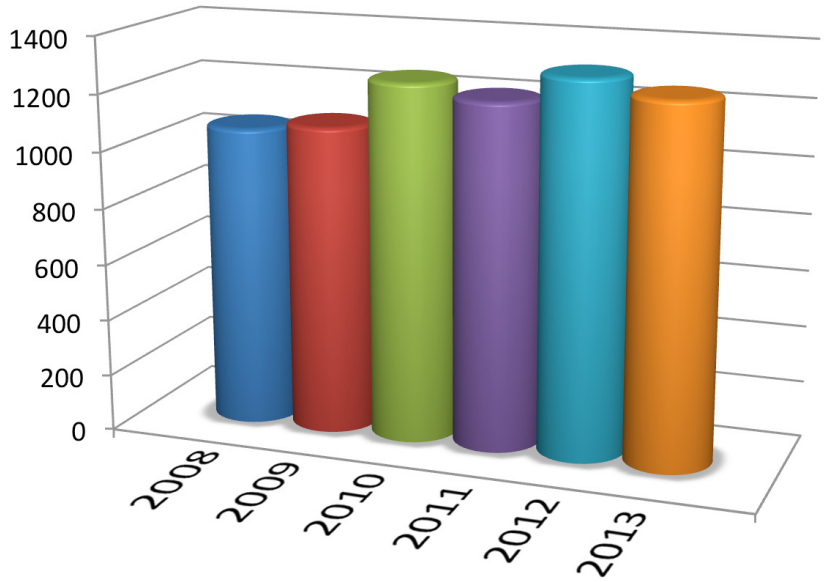
b) Advisering

In 2013 werden in totaal 1261 aanvragen behandeld. Zonder de kleine wijzigingen die door de proefdierdeskundigen of tijdens een reguliere DEC vergadering van een advies zijn voorzien waren dit er 340. Over 1063 aanvragen werd direct positief geadviseerd, al dan niet met op- of aanmerkingen. Zonder kleine wijzigingen waren dit 161 aanvragen. Het gaat hierbij om nieuwe of vervolg aanvragen. De commissie heeft 154 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. 18 Aanvragen zijn na discussie met de DEC nog aangehouden of hebben een intentie tot positief advies gekregen (zijn dus in 2013 niet van een advies voorzien). Er zijn 18 terugrapportages ter continuering van het positief advies ingediend en goedgekeurd, 1 terugrapportage ter continuering van het positief advies is om administratieve reden afgewezen. 7 Aanvragen voor een kleine wijziging zijn afgewezen om administratieve redenen. Verder zijn er nog 30 terugrapportages ingediend, 132 antwoorden op reeds goed gekeurde aanvragen behandeld en 2 adviezen van andere DEC's, na lokale toetsing, overgenomen. Dit betreft projecten die door onderzoekers van buiten beide instellingen in de dierfaciliteit van de UU of het UMC worden uitgevoerd.

Positief advies (direct)	161
Positief advies (indirect)	142
Intentie positief advies, nog niet afgehandeld	6
Aanhouden, nog niet afgehandeld	12
Continuering positief advies	18
Afgewezen continuering positief advies	1
Totaal aantal aanvragen	**340**

Positief voor wijziging (direct)	902
Positief voor wijziging (indirect)	12
Afgewezen voor wijziging	7
Totaal aantal kleine wijzigingen	**921**

Antwoorden op vragen/ Positief advies reeds gegeven	132
Positief advies voor terugrapportage	29
Afgewezen voor terugrapportage	1
Overname DEC-advies	2



Figuur 1: Aantal behandelde aanvragen (inclusief kleine wijzigingen) over de jaren 2008-2013

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

- het advies;
- het doel van de proef;
- de duur van de proef;
- de periode waarvoor toestemming wordt verleend;
- 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.



c) Uitwerking twee casussen

Casus 1: Doel versus proefopzet

Titel studie: Het therapeutische effect van de vaatstabilisator CXE1 op hind-limb reperfusie in een muizen model van Hind-limb ischemia
DEC nummer: 2013.II.07.079

Het therapeutische effect van de vaatstabilisator CXE1 op herstel van doorbloeding in de achterpoot van een muis na vaatschade
Achtergrond: Vaatproblemen vormen wereldwijd een belangrijk en toenemend medisch probleem dat ten grondslag ligt aan een breed scala van veel voorkomende ziekten, waaronder cardiovasculaire ziekten, nierziekten en perifeer vaatlijden. In dit project wordt onderzocht of een bepaald eiwit (CXE1) een beschermend effect heeft na vasculaire schade en herstel bevordert. CXE1 is betrokken bij het contact tussen de cellen die de binnenkant van bloedvaten bekleden (endotheelcellen) en de cellen die daaromheen zitten en stevigheid aan de vaten verlenen (pericyten). Een van de componenten van vaatschade is het wegvallen van dit contact in de van bloeddoorstroming afgesloten gebieden. Na het wegvallen van doorstroming degenereren de vaten in het afgesloten gebied, wat later herstel tegenwerkt.
Doel/hypothese: Door het toedienen van CXE1 hopen de onderzoekers dat een afgesloten vaatbed in de poot van een muis langer in stand blijft. De verwachting is dat de doorbloeding van de achterpoot in de muis daardoor sneller herstelt nadat deze is afgesloten.
Globale aanpak vraagstelling: De slagader die de achterpootjes van muizen van bloed voorziet, wordt operatief dichtgemaakt in aantal muizen, waardoor doorbloeding (gemeten met een laser



In kamer II worden door de DEC alle aanvragen behandeld die te maken hebben met Hart/longen & Vaten. 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. Daarnaast is de DEC er erg alert op dat de formulering en beschrijving van het doel van het experiment en de proefopzet goed op elkaar zijn afgestemd en wordt onderzoekers regelmatig de vraag gesteld of het onderzoek blind en gerandomiseerd wordt uitgevoerd. Door het onderzoek blind uit te voeren wordt de invloed van verwachtingen en van handelwijzen, als gevolg van kennis over wie tot de experimentele groep behoort en wie tot de controlegroep, uitgesloten. Door het onderzoek gerandomiseerd uit te voeren wordt bias voorkomen.

doppler) afneemt. Bij een deel van de muizen wordt dan CXE1 toegediend. Doorbloeding wordt middels laser doppler gevolgd en het is de verwachting dat deze sneller en beter herstelt in de met CXE1 behandelde muizen.

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

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 de volgende punten:

- De DEC constateert dat het doel van het experiment niet overeenkomt met de proefopzet en verzoekt u dit beter op elkaar af te stemmen.
- A5: De DEC is van mening dat de term 'pericyten' te algemeen is voor deze aanvraag. De DEC verzoekt u nader te specificeren wat u in deze aanvraag bedoelt met deze term en waar u deze aantreft.
- A5: De DEC constateert dat er wordt gekeken naar de gevolgen van de edotheel/pericyte interactie, maar niet naar de interactie zelf. De DEC verzoekt u om meer inzicht te geven in wat het endotheel doet in de endotheel/pericyte-interactie.
- A5: De DEC vraagt zich af wat precies het vaatstabiliserende effect is. De DEC verzoekt u om toe te lichten hoe dit stabiliserende effect wordt beoordeeld.
- B1a: De substam (N of J) ontbreekt, graag alsnog vermelden. In dit verband verwijst de DEC u naar de website van de DEC voor een tweetal artikelen over het verschil in substammen.
- B1b: De DEC vraagt zich af waarom dit onderzoek wordt gedaan in de C57BL/6 muizen. Graag nader motiveren.
- De DEC vraagt zich af of het onderzoek blind en gerandomiseerd kan worden uitgevoerd.
- Wordt weefsel geconserveerd voor eventueel aanvullend histologisch onderzoek? Welke parameter wordt dan beoordeeld?

De onderzoeker heeft de DEC daarop schriftelijk, via de website, geantwoord als volgt.

Geachte DEC,

U heeft gelijk dat het doel van het experiment maar gedeeltelijk overeenkwam met de proefopzet. De belangrijkste read-out zal uiteraard histologie zijn, waar wij de interactie tussen endotheel en pericyten direct kunnen visualiseren. We hadden dit eerst niet genoemd omdat dit pas na euthanasie van het dier plaatsvindt, maar dit maakt de aanvraag inderdaad onvolledig. We hebben aanpassingen gedaan in het A-deel en hieronder volgt nog verdere uitleg.

Onder pericyten verstaan wij cellen in de vaatwand die een vaatstabiliserende functie hebben. Het zijn cellen uit de mesodermale lijn, gekenmerkt door verschillende oppervlakte markers zoals NG2 en aSMA. In de bijlage een dubbelkleuring waar endotheelcellen met anti-CD31 groen aankleuren en pericyten met anti-aSMA rood, in een nier-coupe.
Als er vasculogenese (de novo vaatvorming) zonder pericyten plaatsvindt, ontstaan er alleen zeer immature vaten, met een onregelmatig en sinusoidaal aspect die ook zeer 'leaky' zijn. Dit soort vaten ontstaan bijvoorbeeld (zowel in vitro en in vivo) bij een driedimensionale kweek van endotheelcellen in matrigel (zonder pericyten). In het lichaam is er vrijwel altijd vooral sprake van angiogenese (niet vasculogenese), ofwel vaatnieuwvorming vanuit bestaande vaten waarbij er ook pericyten bij betrokken zijn (een uitzondering zijn bepaalde tumorvaten).
We hebben in in vitro (vasculogenese) experimenten (3d matrigel) al gezien dat CXE-1 de interactie tussen endotheel en pericyten bevordert. Dit laatste zien we vooral onder ischemie/laag zuurstof, waar in de aanwezigheid van CXE-1 nog netwerken gebouwd worden, maar zonder CXE-1 niet. Om te zien of dit effect ook in vivo relevant is doen we de voorgestelde proef. Er zal functioneel gekeken worden naar perfusie, histologisch naar overleving van capillairen in de spier en naar capillair nieuwvorming (ki67 + capillairen).

Het onderzoek zal blind, maar niet geheel gerandomiseerd uitgevoerd worden. Er is sprake van een blinde assessor voor de histologie en bij de laser doppler metingen. De groepen worden echter gematcht op baseline perfusie bij injectie van CXE-1 en indien mogelijk wordt behandeling gebalanceerd over kooien verdeeld (bijv. 2 CXE-1 en twee controles per kooi). Bij een proef van deze grootte is er anders een te grote kans op baseline-verschillen bij simpele randomisatie. Men zou deze opzet kunnen zien als blok-randomisatie.

De keuze voor C57/BL6 is gebaseerd op ervaring van andere groepen (wij hebben in het verleden vooral met naakte NMRI muizen gewerkt). Deze stam wordt veel gebruikt voor Hind-limb ischemia experimenten omdat de muizen de operatie goed verdragen. Bij Balb/c muizen wordt vaak necrose van de pootjes gezien, wat gepaard gaat met veel ongerief en histologie als uitleesparameter bemoeilijkt.
Er zijn geen grootschalige muis-stam vergelijkende onderzoeken naar reactie op HLI experimenten. Zover wij weten zijn er slechts de twee onderstaande artikelen, beiden suggereren het gebruik van C57/BL6 boven althans Balb/c en 129sv.
Over het effect van substam (N vs J), kunnen wij geen uitspraken doen. Wij willen C57/BL6J OlaHsd gebruiken, omdat wij verwachten deze muizen gemakkelijk van de leverancier te betrekken.

1. A. Helisch et al., Impact of mouse strain differences in innate hindlimb collateral vasculature, Arterioscler Thromb Vasc Biol 26, 520–526 (2006).
2. P. K. Shireman, M. P. Quinones, Differential necrosis despite similar perfusion in mouse strains after ischemia, J. Surg. Res. 129, 242–250 (2005).

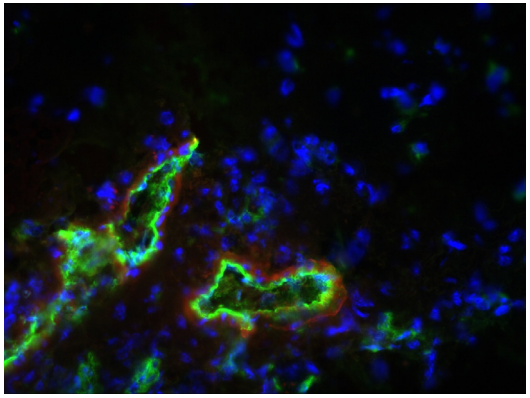


Foto: Casus 1
Een dubbelkleuring waar endotheelcellen met anti-CD31 groen aankleuren en pericyten met anti-aSMA rood, in een nier-coupe.

Na kennis genomen te hebben van deze antwoorden heeft de DEC de vergunninghouder geadviseerd deze aanvraag van een positief advies te voorzien.
De vergunninghouder heeft dit advies overgenomen en toestemming gegeven voor uitvoering van het experiment (fragment uit brief).

Op 8 juli 2013 heeft de dierexperimentencommissie (DEC) aan de raad van bestuur advies uitgebracht over uw onderzoeksproject *Het therapeutische effect van de vaatstabilisator CXE1 op hind-limb reperfusie in een muizen model van Hind-limb ischemia.*, DEC nummer 2013.II.07.079. 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.

De raad 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.

Met vriendelijke groet,



Prof.dr. F. Miedema
Decaan en vice-voorzitter Raad van Bestuur

Casus 2: Het humane eindpunt en monitoring bij toename kans op ongerief

Titel studie: Significance of Lgr4 and Lgr6 proteins in mouse cochlea during development
DEC nummer: 2013.I.10.076

De rol van Lgr4 en Lgr6 eiwitten in de cochlea van de muis tijdens de ontwikkeling
Achtergrond: Gehoorverlies is de meest voorkomende zintuigstoornis met een prevalentie van ongeveer 1 per 1000 geboortes. Daarnaast komt verworven gehoorverlies veel voor, vooral bij ouderen. Gehoorverlies bij of vroeg na de geboorte leidt tot problemen bij het leren van spraak en taal. Verworven gehoorverlies kan tot sociale isolatie leiden. Een beargumenteerde schatting gaat uit van wereldwijd op dit moment 560 miljoen mensen met een gehoorverlies van meer dan 25 dB. Dergelijke schattingen voor Nederland gaan uit van 3% van de bevolking boven de 12 jaar en 25% van de mensen boven de 65 jaar. Uiteraard horen hier hoge kosten bij, zowel door het wegvallen van arbeidsrendement als door zorgkosten, denk alleen maar aan hoortoestellen. Perceptief gehoorverlies ontstaat door degeneratie van bepaalde structuren in het binnenoor inclusief de haarcellen. Dit type gehoorverlies kan veroorzaakt worden door genetische afwijkingen, te harde geluiden, schadelijke stoffen, infecties en veroudering. In zoogdieren is, in tegenstelling tot veel lagere dieren, regeneratie van het zintuigepitheel nog niet mogelijk. Tegenwoordig kunnen we perceptief gehoorverlies wel behandelen met zogenaamde cochleaire implantaten, ook wel binnenoorprotheses genoemd, maar technische beperkingen maken dat dit maar een zeer incomplete oplossing is. Een mogelijk betere oplossing is het induceren van regeneratie van het zintuigepitheel en de geassocieerde zenuwstructuren en dat is dan ook de achtergrond van deze studie.

Het precieze doel van de studie is de karakterisering van aanwezigheid en activiteit van LGR receptoren in de cochlea (Engels: Leucine Rich repeat G protein coupled Receptors) van muizen. Deze eiwitten vormen een familie die als markeerder geldt voor stamcellen in maag, darm en haarzakjes. Lgr5 positieve cellen kunnen zich ontwikkelen tot haarcellen in vitro. Er zijn nog twee andere varianten van het eiwit, Lgr4 en Lgr6 en die zijn nog helemaal niet gekarakteriseerd in het binnenoor. Het doel van deze studie is om de rol van Lgr4 en Lgr6 in de ontwikkeling van het binnenoor en van het gehoor te karakteriseren. Een lange termijn doel is uiteraard de regeneratie

van het zintuigepitheel, eerst in doof gemaakte muizen, later in mensen. Dit zou een enorme stap voorwaarts zijn in het verbeteren van de kwaliteit van leven van de ernstig slechthorenden, hun familie en de maatschappij in het algemeen.

Doel/hypothese: Eerder onderzoek uit onze groep heeft aangetoond dat Lgr4, Lgr5 en Lgr6 eiwitten in het binnenoor van de muis aanwezig zijn. Het doel van deze studie is daarom het verder onderzoeken van de rol en de significantie van Lgr4 en Lgr6 tijdens de cochleaire ontwikkeling en voor het gehoor.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studie wordt de aanwezigheid en de rol van Lgr4 en Lgr6 eiwitten gedurende de ontwikkeling van het gehoororgaan gekarakteriseerd. Omdat processen betrokken bij de ontwikkeling ook van toepassing zijn op regeneratie, zal dit project bijdragen aan het begrijpen van de mechanismen die belangrijk zijn bij het herstellen van het gehoor in patiënten die lijden aan gehoorverlies. In dit project wordt gebruik gemaakt van twee genetisch gemodificeerde muismodellen. Eén van deze modellen wordt gebruikt om de locatie van Lgr6 in het binnenoor van de muis tijdens de ontwikkeling te bestuderen. De locatie van Lgr6 wordt onderzocht door de eiwitten uit de cochlea waarin we geïnteresseerd zijn te visualiseren. Daarnaast zal het gehoor van deze muizen onderzocht worden met een elektrode achter het oor. In het tweede model zal bij muizen met een Lgr4-deficiëntie de significantie van het Lgr4-gen voor het gehoor onderzocht worden, eveneens met een elektrode achter het oor. Vervolgens wordt met behulp van een microscoop onderzocht hoe de afwezigheid van het Lgr4-eiwit de structuur van het binnenoor beïnvloedt. Er is gekozen voor muismodellen omdat dit dier veelal gebruikt wordt in gehooronderzoek. Hierdoor zullen behaalde resultaten direct vergeleken kunnen worden met studies van andere onderzoeksgroepen. Tot slot is het binnenoor van de muis erg verwant aan het humane binnenoor, wat vertaling van de resultaten naar patiënten met gehoorverlies vereenvoudigd.

Op 9 oktober 2013 is deze aanvraag besproken tijdens de DEC-vergadering voor kamer I. Eén van de vragen van de DEC had te maken met het humane eindpunt. Allereerst is dit voor de dieren van belang, omdat excessief ongerief hiermee wordt voorkomen. Daarnaast zorgt het formuleren van een duidelijk en helder humaan eindpunt ervoor dat het voor iedereen die met de dieren werkt duidelijk is wanneer de dieren uit de proef moeten worden gehaald. Goede en regelmatige monitoring van de dieren is hierbij van belang.

Aangehouden.
De DEC is op dit moment nog niet in staat om uw aanvraag van een advies te voorzien.

De DEC ontvangt graag uw reactie op de volgende punten:

- B1c: U geeft aan dat de LGR4-dieren na drie weken overlijden. De DEC vraagt zich af waaraan de dieren precies overlijden. Graag vermelden in de aanvraag.
- C-deel 1, vraag 4a: Hoe kunnen de dieren tussen 19 en 23 dagen oud nog in de proef gebruikt worden wanneer ze slechts drie weken oud worden?
- C-deel 1, vraag 4a: Hier heeft u het over 'post-hearing'. De DEC vraagt zich af wat u hier precies mee bedoelt. Bedoelt u hiermee de fase vlak na geboorte of de fase na het doof worden.
- C-deel 1, tabel 4c, procedure 1: De DEC verzoekt u in de tabel ook het ongerief als gevolg van de fok op te nemen (matig/ernstig ongerief). Het totale ongerief (4d) komt hier ook mee op matig/ernstig. Graag wijzigen.
- C-deel 1, vraag 5c: Gezien het feit dat de dieren tot (vlak) aan de dood gebruikt worden in het experiment verzoekt de DEC u het humane eindpunt weer te geven.
- In uw antwoord op een vraag (B1c) van de art. 14 functionaris heeft u het over het indienen van een kleine wijziging voor het doden van de embryonale homozygote pups. De DEC vraagt zich af wat hier de reden van is en waarom u dit niet direct meeneemt in deze aanvraag.
- C-deel 2, vraag 2a: De DEC vraagt zich af of enkele LGR-6 wt pups bij de moeder achterblijven of dat alle pups bij de moeder worden weggehaald. Indien alle pups worden weggehaald geeft dit gering ongerief voor de moeder en dienen de moeders in de aanvraag vermeld te worden. Indien er enkele pups achterblijven hoeven de moeders niet in de aanvraag te worden opgenomen. Graag verhelderen en de aanvraag eventueel wijzigingen.
- C-deel 2, vraag 4a: Het is de DEC niet helder op welke leeftijd de embryo's worden gebruikt? Vanaf E19 moeten embryo's worden meegeteld in de aanvraag, op een leeftijd van vóór E19 is dat niet nodig. Graag verhelderen en vermelden in de aanvraag.

De onderzoeker heeft de DEC daarop schriftelijk, via de website, geantwoord als volgt.

Dear DEC,

Thank you for considering my application. Below we prepared answers to your questions:

- B1c: The Lgr4 homozygous deficient mice die due to problems with the kidneys. Three weeks after birth (post natal day P15-P21), those animals start to develop initial cysts in their kidney, which eventually leads to their death. In very severe cases, (first dead cases = mortality) can be expected four weeks after birth. The relevant information was added to the DEC application in point B1c.
- C- 1, Question 4a: Mice start to hear approximately at postnatal day P15, by P19 their auditory organ is still developing and first at P19 it is considered to be maturated. Thus, to measure hearing in mice we need to use animals that are P19 and older. The Lgr4 deficient mice develop cysts in kidney in their third week of life (P15-P21) and start to die four weeks after birth (P22 onwards). Therefore, to measure hearing we want to use the P19-P23 mice which have already developed hearing but still before the time when these animals suffer distress. Since all mice will be sacrificed after measurement, this experiment will be perform with minimal distress for those animals.
- C-1, Question 4a: Mice are born deaf and develop hearing between postnatal day P11 and P15. Therefore, in mouse development we can distinguish before onset-of-hearing time (P0-P10), the onset of hearing time (P11-P15), and after-onset-of-hearing time (P16 onwards). However, although mice can already hear, the murine cochlea is still developing between P16 and P18. As I have already mentioned in this application, the objective of our experiment is to assess the hearing of Lgr4 deficient mice, thus we need to use Lgr4 mice at the age of P19 and older, meaning the post-hearing mice with fully developed auditory organ.
- C-1, Question 4c: The distress due to breeding was added to the table and the discomfort was indicated as moderate/severe distress. Therefore, the duration of experiment was changed to 2 months and the total discomfort of the experiment was also changed to moderate/severe.

- C-1, Question 5c: The human end-point was added. The animals will be euthanized if the following symptoms will be observed: blood in urine and loss of weight (more than 20% during two days).
- Answer to article 14 officer on a question B1c: We knew that the embryos used in our experiment are younger than E19 and are not accounted as laboratory animals but we thought that we should still include them in calculations, since we did this way in our previous applications. Furthermore, we thought we should inform article 14 officers and DEC about the number of those embryos and what happened to them even if they are not considered as laboratory animals. I was instructed to this way in our previous application where we used embryos and neonates.
- C-2, Question 2a: 25% of pups should be homozygous wild type and should stay with mother till they reach the age when they can be separated and live without mother. Just after weaning mothers, which are heterozygous, will undergo electrophysiological measurements (ABRs) to assess their hearing and will be killed, as described in C-2 question 4c. If all pups turn out to be heterozygous and homozygous (-/-) than mother will immediately follow ABRs and will be killed, thus won't feel distress.
- C-2, Question 4a: in this study we will use embryos at the E12-E18 stage of development (E12-14 proliferation in cochlea, E15-18 hair cells differentiation in cochlea). I discussed this with article 14 officer and since those mice are younger than 19 days after conception they must not be considered as laboratory animals and should be subtracted from our DEC application. Therefore, the number of pups has decreased to 10. However, we still need to include those embryos to calculate the number of mothers, thus I do mention about those embryos in part B question 3a.

Het humane eindpunt is nu weergegeven in de aanvraag, maar omdat gekeken wordt naar de gewichtsafname van de dieren, dient dit samen met het bijbehorend ongerief ook vermeld te worden als handeling. Bovendien is van belang de frequentie van monitoren van de dieren op te voeren naarmate de kans op ongerief toeneemt. De DEC geeft om die reden een intentie tot positief advies af en verzoekt de onderzoeker nog een en ander aan te passen.

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 de volgende punten:

- De DEC verzoekt u, vanwege de mortaliteit de dieren, vanaf dag 20 tweemaal per dag te observeren. Graag opnemen in de aanvraag. Bovendien wil de art. 14 functionaris graag meekijken vanaf dag 20 in verband met deze mortaliteit. De DEC verzoekt u contact met hem op te nemen zodra u in dit stadium bent.
- C4a: Gezien het feit dat u in het humaan eindpunt spreekt over gewichtsverlies, moet het wegen van de dieren opgenomen worden in C4a en tabel C4c.
- Gelet op de nieuwe Europese richtlijn dierproeven moet de DEC de embryo's van E14 meetellen voor het totaal aantal benodigde dieren. Naar aanleiding van deze opmerking in de aanvraag (B1a, B3a en C2a) graag weergeven wat het nieuwe aantal benodigde dieren wordt.

De onderzoeker heeft de DEC daarop schriftelijk, via de website, geantwoord als volgt.

Dear DEC,

Thank you for considering our application.

Please, below you will find the answers to your questions.

- We added to our protocol information that the health of Lgr4 deficient mice will be checked day-by-day and from P20 onwards twice a day. This information is included in point C1-4a. Regarding inspections of art. 14 officers, we are afraid that this might be a bit complicated, since these mice are breed and housed at the [redacted], Brussels, Belgium, as stated in point C1-3a. We forgot to include the name of [redacted], who is our collaborator and keeps this mouse line (now it's added in point A1g). We will go to Brussels to test the hearing of those mice.
- Regarding C1-4a, in points C1-4a and C1-4c we have included that mice will be weighed every three days.
- Since we will investigate embryos at stage of E12 to E18 and the E14 embryos are now accounted as laboratory animals we increased the number of requested pups. As stated in point B3a, for each developmental stage we need 5 pups, thus for the total number of 10 pups we added 5 embryos. Now, to investigate 3 developmental stages, we request 15 pups in total. We changed this number in points B1a, B3a and C2-2a.

Thank you for your remarks and we hope for your final, positive decision.

With kind regards,

De DEC begrijpt dat het lastig is om de art. 14 functionaris mee te laten kijken bij de uitvoering van het experiment. Voor de DEC is dit echter geen reden om de aanvraag nog langer aan te houden en heeft de vergunninghouder geadviseerd deze aanvraag van een positief advies te voorzien met als voorwaarde dat de onderzoeker zelf (i.c. de collega in Brussel) de dieren vanaf dag 20 nauwkeurig observeert en hierover een terugrapportage indient bij de DEC.

Positief advies tot 1 januari 2016 met voorwaarde.
De DEC erkent dat het belang van uw onderzoek opweegt tegen het ongerief voor de dieren en geeft een positief advies af voor het gebruik van C1: 6 Lgr4/Gpr48^Gt,Lgr4-/-, 6 Lgr4/Gpr48^Gt,Lgr4+/- en 6 Lgr4/Gpr48^Gt,Lgr4+/+ en C2: 6 vrouwelijke B6.129P2-Lgr6tm2.1(cre/ERT2)Cle/J (moeders) en 15 B6.129P2-Lgr6tm2.1(cre/ERT2)Cle/J (pups) muizen.

Voorwaarde:
De DEC verzoekt u, uw collega in Brussel te verzoeken de nakomelingen vanaf dag 20 nauwkeurig te observeren en daarover na afloop van het onderzoek verslag te doen aan de DEC middels een terugrapportage.

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

Op 10 december 2013 heeft de dierexperimentencommissie (DEC) aan de raad van bestuur advies uitgebracht over uw onderzoeksproject *Significance of Lgr4 and Lgr6 proteins in mouse cochlea during development.*, DEC nummer 2013.I.10.076. 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.

De raad 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.

Met vriendelijke groet,



Prof.dr. F. Miedema
Decaan en vice-voorzitter Raad van Bestuur



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 onderzoekers 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 2013

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, 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, 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, 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 2013

Kamer I

Beeldvorming,

Gedrag en Hersenen,

GGO's

Vergadering 9 januari 2013

Titel studie: Farmacologische en toxicologische eigenschappen van Ionkanalen

DEC nummer: 2013.I.01.001

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 ionkanalen kan worden beïnvloed door bv. 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 signaal ontvangst kunnen verstoren. Het gevolg hiervan is dat de communicatie tussen zenuwcellen wordt verstoord. Globale aanpak vraagstelling: De zgn. ionkanalen kunnen tot expressie worden gebracht in onbevruchte eicellen van de klauwpad (Xenopus). Het functioneren van deze ionkanalen 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 ionkanaal activatie 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: Murine neurospheres as an in vitro model for development neurotoxicity studies

DEC nummer: 2013.I.01.002

Neurospheres als model om verstoring van de hersenontwikkeling door o.a. milieucontaminanten te onderzoeken

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 bv. extreem laag frequente elektromagnetische velden (ELF-EMV) de ontwikkeling en het functioneren van het zenuwstelsel kunnen veranderen. Hersenontwikkeling, en de verstoring daarvan door omgevingsfactoren, wordt in het lab vooral in proefdieren onderzocht. Daaraan zitten niet alleen ethische bezwaren, het is ook moeilijk te onderzoeken, tijdrovend en duur. 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 geïsoleerd uit embryonaal hersenweefsel van muizen.

De aanwezigheid van verschillende celtypes, groei en ontwikkeling in de neurospheres komt overeen met de hersenontwikkeling in levende dieren/mensen, waardoor onderliggende mechanismen van verstoorde hersenont-

wikkeling nu kunnen worden onderzocht met minder proefdieren.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om aspecten van hersenontwikkeling te onderzoeken in neurospheres in plaats van rechtstreeks in proefdieren. 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: Primary neuronal cultures for studying acute, chronic and developmental neurotoxicity using functional readouts

DEC nummer: 2013.I.01.003

Primaire neuronale kweken om acute chronische en ontwikkelingsneurotoxiciteit te bestuderen d.m.v. functionele parameters
Achtergrond: Hersenfunctie en ontwikkeling zijn erg gevoelig voor verstoring door omgevingsfactoren (chemische zoals verontreinigende stoffen en medicijnen, maar ook fysische zoals bv. extreem laag frequente elektromagnetische velden (ELF-EMV)). Om deze verstoring van de hersenen in het lab te onderzoeken, wordt meestal gebruik gemaakt van proefdieren. Daaraan zitten niet alleen ethische bezwaren, het is ook moeilijk te onderzoeken, tijdrovend en duur. In het lab kunnen nu primaire neuronale kweken worden gebruikt om buiten een dier de (verstoring van) hersenontwikkeling te onderzoeken. De primaire kweken kunnen uit specifieke hersengebieden worden geïsoleerd waardoor een aantal kenmerken van de betreffende neuronale cellen al bekend is en ze kunnen worden gebruikt voor onderzoek naar specifieke aandoeningen in relatie tot blootstelling aan chemische stoffen (bv. door pesticiden veroorzaakte Parkinson's Disease). Doordat deze primaire neuronale kweken in het lab enkele weken in leven kunnen blijven, kunnen we de effecten van zowel acute alsook chronische blootstelling op hersenontwikkeling en functie bestuderen. Op deze manier kunnen we met de cellen van slechts enkele rattenpups veel verschillende condities testen, zonder het proefdier zelf te hoeven blootstellen.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om een aspecten van hersenontwikkeling en functie te onderzoeken in primaire neuronale kweken in plaats van rechtstreeks in proefdieren. Dit in vitro model zal worden gebruikt om de acute, chronische en ontwikkelingsneurotoxiciteit van verschillende chemische en fysische omgevingsfactoren (drugs, verontreinigende stoffen, medicijnen, elektromagnetische velden) te onderzoeken.
Globale aanpak vraagstelling: De primaire neuronale kweken worden verkregen uit het brein van rattenpups. Deze primaire kweken ontwikkelen zich in het lab binnen enkele dagen tot functionele neuronale netwerken die vervolgens kunnen worden blootgesteld aan de te

onderzoeken chemische en fysische omgevingsfactoren. Daardoor kunnen effecten op de ontwikkeling én functie van deze neuronale netwerken worden gemeten om zo een betere inschatting te kunnen maken van het gevaar van omgevingsfactoren voor hersenfunctie en ontwikkeling.

Titel studie: Toepassing van foerageerverrijking bij papegaaien: ontwikkeling van nieuwe, effectieve foerageerstrategieën

DEC nummer: 2013.I.01.004

Ontwikkeling van nieuwe en effectieve voedselverrijking voor papegaaien

Achtergrond: 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 verenpluken. Vogels hebben behoefte dit gedrag uit te oefenen. Uit eerder onderzoek blijkt dat de huidig beschikbare foerageerverrijking, in vergelijking tot de wilde situatie, onvoldoende effectief is om de gedragsbehoefte te vervullen. Om deze reden is ontwikkeling van nieuwe voedselverrijking belangrijk, zodat de behoefte van papegaaien in gevangenschap beter vervuld kunnen worden.

Doel/hypothese: Ontwikkeling van een verrijkingsmethode om de voedsel zoekbehoefte van papegaaien in gevangenschap te kunnen vervullen.

Globale aanpak vraagstelling: In het onderzoek wordt nieuwe voedselverrijking ontwikkeld die op kleine schaal wordt getest (in eerste instantie gebruikmakend van 1 papegaai) op effectiviteit door het meten hoeveel tijd de papegaai bezig is met het verwerven van zijn dagelijkse portie voer. Aan de hand van de resultaten bij deze papegaai zal de verrijking worden aangepast en geoptimaliseerd zodanig dat een voedselzoek tijd van > 5 uur per dag behaald wordt. Vervolgens zal in een nieuwe studie, met behulp van een groter aantal papegaaien, getest worden of deze nieuwe verrijking daadwerkelijk bij alle papegaaien voldoende effectief is om de hoeveelheid tijd die de vogels per dag besteden aan het zoeken en consumeren van voer uit dit speelgoed te verlengen tot > 5 uur.

Titel studie: Het sub-primed model voor FSD in Long Evans ratten en de effecten van testosteron/sildenafil combinatietherapie

DEC nummer: 2013.I.01.005

Het hormoon-model voor vrouwelijke seksuele dysfunctie en de behandeling met testosteron-viagra combinatie therapie

Achtergrond: Vrouwelijke seksuele dysfunctie is een vaak voorkomend probleem en verlaagt de kwaliteit van leven van deze vrouwen. Met ons diermodel kunnen we onderzoek doen naar mogelijke therapieën. Testosteron in combinatie met Viagra (deze stof remt PDE5. PDE5

is een enzym dat betrokken is bij signaaloverdracht in cellen) heeft een stimulerende werking op seksueel gedrag in dysfunctionele vrouwtjes ratten. We willen onderzoeken wat de onderliggende mechanismen zijn van de stimulerende werking van bovengenoemde combinatietherapie. Aan het gebruik van testosteron door vrouwen kleven nogal wat bezwaren. Ons uiteindelijk doel is om in de combinatietherapie testosteron te kunnen vervangen door een stof met minder bijwerkingen. In onze voorgaande studie is gebleken dat het type rat wat nu gebruikt wordt om naar de effecten van testosteron te kijken, geen stabiele gevoeligheid voor testosteron laat zien. Hierdoor lijkt dit type rat niet geschikt om het werkingsmechanisme van testosteron te bestuderen.
Doel/hypothese: Het doel is het hormoonmodel voor vrouwelijke seksuele disfunctie op te zetten in een andere rattenstam, namelijk de Long Evans rat, en in dit model onze eerdere bevinding dat testosteron-geïnduceerde effecten afhankelijk zijn van genomische effecten (= aanmaak van bepaalde eiwitten) en niet afhankelijk zijn van de omzetting van testosteron in zijn actieve metabolieten.
Globale aanpak vraagstelling: We willen eerst de vrouwtjes ratten verschillende hoeveelheden vrouwelijke sekshormonen geven om vast te stellen hoeveel hormonen we moeten geven om verminderde seksdrive te induceren. Vervolgens willen we in vrouwtjes ratten met een verminderde seksdrive een aantal verschillende behandelingen testen. In de eerste serie experimenten zal testosteron voor het begin van de sekstest worden geven. Dit experiment is vooral bedoeld om onderscheid te kunnen maken tussen genomische en niet-genomische effecten van testosteron. In het laatste experiment zal een stof gegeven worden die het metabolisme van testosteron blokkeert.

Titel studie: Effects of dietary intervention on a PD mouse model induced via oral administration of the pesticide rotenone

DEC nummer: 2013.I.01.007

Onderzoek naar de darm-brein as en het effect van dieet in een muismodel voor de ziekte van Parkinson
Achtergrond: De ziekte van Parkinson is een ziekte die gekenmerkt wordt door stoornissen in het bewegingsapparaat (traagheid, verminderd bewegen, stijfheid en beven). Naast de motorieke problemen ondervinden Parkinson patiënten talrijke andere symptomen (met name problemen in het maag-darmkanaal) alvorens de stoornissen in het bewegingsapparaat optreden. Deze “non-motorische” symptomen staan op dit moment centraal binnen onderzoek naar de oorzaak van de ziekte van Parkinson. In voorgaande experimenten hebben we aangetoond dat het Parkinson muismodel zowel de stoornissen vertoond van het bewegingsapparaat alsook van het maag-darmkanaal. Om meer inzicht te krijgen in darmproblemen bij PD, willen we een andere route van inductie van de ziekte bestuderen, namelijk via de orale route. Er is uitgebreid onderzoek gedaan naar de positieve effecten van bepaalde diëten bij hersenziektes. Wij zijn ervan overtuigd dat behandeling van ons Parkinson-muismodel met een bepaald dieet zal leiden tot vermindering van de stoornissen in het spijsverteringskanaal. De consequentie zou kunnen zijn dat ook

de karakteristieke motor functie stoornissen in PD zullen verminderen. Naast deze studie zal in samenwerking met Rush University, Chicago USA, ook onderzoek in humane darmbiopten worden gedaan om na te gaan of de effecten gevonden in het darmkanaal in het muizenmodel voor PD vergelijkbaar zijn met de problemen in patiënten met PD.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om ontstekingen en neuronale schade in het maag-darmkanaal, die optreedt na induceren van de ziekte van Parkinson in de muizen in kaart te brengen. Hiervoor willen we de ziekte via het maag-darmkanaal op gang brengen. Er wordt verwacht dat de behandeling via dieet zal leiden tot vermindering van de stoornissen in het spijsverteringskanaal, waardoor de kwaliteit van leven van patiënten verbeterd kan worden en wellicht de symptomen van het bewegingsapparaat verminderd worden.
Globale aanpak vraagstelling: Het diermodel wordt geïnduceerd door orale toediening van rotenone in het maag-darmkanaal van muizen. Rotenone is een toxische stof (een pesticide) die aangrijpt in een proces dat ook bij Parkinson verstoord is. Bovendien hebben epidemiologische studies een correlatie laten zien tussen blootstelling aan dit pesticide en het risico op het krijgen van de ziekte van Parkinson bij de mens. Aannemelijk is dat de blootstelling bij de mens aan rotenone via het voedsel gaat. Het is eerder aangetoond dat orale toediening van rotenone in muizen maagdarmproblemen en karakteristieke symptomen van het bewegingsapparaat kan veroorzaken. We gaan in deze aanvraag met name non-motorische symptomen in het maagdarmkanaal van de ziekte onderzoeken in muizen. De dieren krijgen rotenone toegediend al dan niet in combinatie met het dieet. De verwachting is dat deze dieren symptomen van de ziekte van Parkinson ontwikkelen in het maag-darmkanaal, zoals vertraagde maaglediging en ontsteking in de darm, en een milde vorm van stoornissen in het bewegingsapparaat.

Titel studie: Influence of poor nesting during early life on cortical function in adult mice

DEC nummer: 2013.I.01.008

Neuronale correlaten van stressvolle ervaringen vroeg in de ontwikkeling op de prefrontale cortex van volwassen muizen
Achtergrond: Eerdere klinische studies hebben een duidelijke associatie geïmpliceerd tussen het ervaren van stressvolle gebeurtenissen tijdens de kindertijd en het ontwikkelen van mentale problemen later in het leven. Recente studies hebben het belang van de kritieke periode van ontwikkeling tijdens de jeugd benadrukt. Hierin werd aangetoond dat zelfs licht onprettige ervaringen kunnen interacteren met hersenontwikkeling. Dit onderwerp komt steeds meer onder de aandacht in het klinische als wel in het preklinische onderzoek. Echter hebben voorgaande dierexperimentele studies naar de rol van stress vroeg in het leven alleen gekeken naar de impact van hevige stressoren zoals maternale deprivatie. In acht genomen dat kinderen die zijn opgevoed in slechte omstandigheden vaak problemen met aandacht en executieve functies ontwikkelen, lijkt het erop dat de prefrontale cortex, een centrum voor hogere cognitieve functies en betrokken bij dit soort taken, is beschadigd

in deze personen. Daarom willen wij de mechanismen onderliggend aan deze effecten van stress vroeg tijdens de ontwikkeling op corticale neuronen in het volwassen brein bestuderen.
Doel/hypothese: Wij denken dat milde stress vroeg in het leven neuronale communicatie tussen corticale neuronen aantast. Vanuit dit perspectief willen we onze aandacht focussen op prefrontale corticale neuronen. De activiteit van deze neuronen is belangrijk voor hogere hersenfuncties zoals selectieve aandachtsfocus en het maken van keuzes.
Globale aanpak vraagstelling: Met deze studie willen we de rol bestuderen van het ervaren van milde stressvolle gebeurtenissen tijdens de ontwikkeling in de vormgeving van hogere corticale functies. Deze vroege milde stress zou zich kunnen manifesteren in cognitieve problemen later in het volwassen leven. Voor een longitudinale studie met deze vraagstelling is het gebruik van een valide diermodel noodzakelijk. Ook erg belangrijk is dat we specifiek geïnteresseerd zijn in de effecten van milde stress op de corticale ontwikkeling. Over dit soort modellen is nog maar weinig bekend in de literatuur. De meeste studies gebruiken agressievere paradigma's om hevige stress te induceren, zoals maternale deprivatie. Het is hoogst noodzakelijk om verder te kijken dan alleen het effect van hevige stressoren tijdens de ontwikkeling en ook te focussen op milde stressvolle levensgebeurtenissen. Deze effecten worden geïllustreerd door de klinische rapportage over de verslechterde prestaties op hogere cognitieve testen, zoals aandacht en keuzes maken, van personen die zijn opgegroeid in een afgezonderde omgeving. Wij denken dat milde early-life stress communicatie van de corticale neuronen vermindert. Om deze reden vestigen we de aandacht op neuronen in de prefrontale cortex waarvan de werkzaamheid goed bekend is. Deze zijn belangrijk voor hogere orde hersenfuncties, zoals selectieve aandacht en besluitvorming. In deze studie maken wij gebruik maken van hersenenplakjes van volwassen muizen (C57BL/6J). Na het doden van de dieren en het voorbereiden van de hersenplakken willen we synaptische transmissie in de prefrontale neuronen meten.

Titel studie: Visualisatie van dynamische biologische processen voor en tijdens elektrische stimulatie van de nucleus accumbens (d.m.v. SPECT / PET)

DEC nummer: 2013.I.01.009

Visualisatie van dynamische biologische processen voor en tijdens elektrische stimulatie van de nucleus accumbens (d.m.v. SPECT / PET)
Achtergrond: Diepe hersenstimulatie (DBS) is een therapeutische techniek waarbij specifieke hersengebieden elektrisch gestimuleerd worden om zo behandel resistente patiënten te kunnen behandelen. Dit is een veelgebruikte techniek in de behandeling van o.a. Parkinsonisme en andere psychiatrische stoornissen . Het onderliggende principe en de neuronale mechanismen van DBS zijn nog onbekend. Daarentegen, heeft translationeel onderzoek wel laten zien dat DBS direct de hersenactiviteit kan veranderen in een gecontroleerde manier en dat dit omkeerbaar is (Kringelbach et al. 2010). Meer onderzoek is nodig om het onderliggende

mechanisme en de neuronale netwerken te identificeren en daardoor de therapie verder te optimaliseren.
Doel/hypothese: Identificatie en visualisatie (d.m.v. SPECT / PET) van (dynamische) biologische processen in het levende muizenbrein voor en tijdens nucleus accumbens DBS.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie wordt in muizen een specifiek hersengebied (nucleus accumbens) elektrische gestimuleerd (DBS). Doormiddel van imaging technieken die speciaal ontwikkeld zijn om de aanwezigheid van biologische moleculen driedimensionaal weer te geven in muizen en ratten d.m.v. radioactieve stoffen (SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) / PET (Positron Emission Tomography) / CT) kunnen de onderliggende biologische processen van DBS in kaart worden gebracht. Elektrodes worden geïmplanteerd tijdens een operatie waarbij de muizen onder anesthesie worden gebracht. Na een herstel periode van minimaal een week zullen de dieren opnieuw onder anesthesie worden gebracht en vervolgens gescand worden voor en tijdens DBS waardoor we precies de effecten van DBS in kaart kunnen brengen. Het is in het belang van patiënten om onderzoek te doen naar de biologische processen onderliggend aan DBS om de huidige therapie verder te optimaliseren. Hiervoor zijn dierproeven onvermijdelijk.

Titel studie: Synaptische plasticiteit in organotypische hersenkweken

DEC nummer: 2013.I.01.010

Balans tussen excitatoire en inhibitoire signalen in de hersenen

Achtergrond: Onze hersenen zijn zeer flexibel en dynamisch. Dat zorgt ervoor dat we zelfs tot op hoge leeftijd dingen kunnen leren en nieuwe herinneringen kunnen opslaan. Helaas zorgt deze flexibiliteit er soms ook voor dat er iets mis gaat en dan ontstaan neurologische aandoeningen zoals epilepsie, schizofrenie, autisme, etc. Zulke aandoeningen zijn vaak het gevolg van een verstoorde balans tussen signalen die neuronale activiteit stimuleren (‘excitatoire’ signalen) en signalen die activiteit remmen (‘inhibitoire’ signalen).
Doel/hypothese: In dit onderzoek proberen we beter te begrijpen hoe excitatoire en inhibitoire signalen in de hersenen elkaar beïnvloeden en welke eiwitten hierbij een rol spelen.
Globale aanpak vraagstelling: Signalen in de hersenen worden doorgegeven via verbindingen tussen zenuwcellen, synapsen genaamd. Wij onderzoeken hoe deze synapsen veranderen als gevolg van veranderingen in hersenactiviteit. Hiervoor manipuleren wij de hersenactiviteit in gekweekte hersenplakjes, waarin de synapsen in hun ‘natuurlijke’ leefomgeving zijn. We gebruiken een speciale ‘2-fotonen microscoop’ om de synapsen nauwkeurig te kunnen zien en hun veranderingen ‘live’ te kunnen volgen. Met behulp van moderne technieken

uit de moleculaire biologie bestuderen we de functie van verschillende eiwitten en hun interacties in deze processen.

Titel studie: IL10-4 als behandelingsmethode van chronische pijn

DEC nummer: 2013.I.01.011

Testen van een fusie eiwit als behandelingsmethode van chronische pijn

Achtergrond: Chronische pijn die blijft bestaan nadat mensen hersteld zijn van een ontsteking is een belangrijk klinisch probleem. Chronische ontstekingspijn is moeilijk te behandelen en de onderliggende mechanismen zijn slechts gedeeltelijk bekend. Wij hebben een model ontwikkeld waarin muizen langdurig gevoelig blijven voor warmte prikkels nadat de ontsteking verdwenen is. Het blijkt dat in dit model pijn geremd kan worden met een fusie eiwit.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het nagaan of het fusie eiwit chronische ontstekingspijn langdurig kan remmen.

Globale aanpak vraagstelling: We gebruiken een 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. In deze studie willen we onderzoeken of het geven van een bepaald fusie eiwit al aanwezige chronische pijnovergevoeligheid kan remmen. Gevoeligheid voor hitte is geregeld op verschillende niveaus: daar waar de hitte stimulatie wordt toegepast op 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. We kunnen deze vraag dan ook niet anders dan met dierproeven beantwoorden.

Titel studie: The effect of different omega-6/omega-3 ratios on mouse neuronal progenitor cells

DEC nummer: 2013.I.01.012

Het effect van de verschillende ratio's van omega-6 over omega-3 op muis neuronale stamcellen

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 lopen 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 vervangen

door plantaardige (n-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 en is de inname van omega-6 verhoogd. In dit onderzoek wordt een studie opgezet om de effecten van de verschillende n-6/n-3 verhoudingen te onderzoeken in neuronale voorloper cellen uit muizenpups van 1 dag oud. Door het gebruiken van deze pups, in twee verschillende muislijnen, kan ook gekeken worden naar het effect van de genetische achtergrond op de verschillende n-6/n-3 verhoudingen.
Doel/hypothese: Door het toevoegen van de verschillende verhoudingen van omega-6/omega-3 aan de cellijnen van de pups, kunnen de effecten van deze vetzuren op de celgroei geobserveerd worden. Door het gebruiken van twee verschillende hersenstructuren, de hippocampus en de cortex, van deze pups, kunnen effecten van omega-3 op die structuur, welke een gekende invloed heeft op o.a. gedrag, opgevolgd worden.
Globale aanpak vraagstelling: Een dag na de geboorte worden een aantal pups geëuthanaseerd voor het opstarten van een celcultuur. Na de dood van deze pups, zijn voor het onderzoek in celculturen geen nieuwe proefdieren meer nodig. Door de cellen te laten groeien en daarna een groot deel te bewaren bij -196 graden Celcius, kunnen deze cellen steeds opnieuw gebruikt worden.

Titel studie: Interactie tussen allergie en valproaat-geïnduceerde gedragsveranderingen en de invloed van dieetinterventie

DEC nummer: 2012.I.01.013

Onderzoek naar de interactie tussen allergie en gedragsafwijkingen geassocieerd met autisme en hoe deze interactie beïnvloed kan worden door een dieet dat effect heeft op zowel het zenuwstelsel als het immuunsysteem
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 onze experimenten gebruiken we een VPA-geïnduceerd muizenmodel voor autisme, waar we naast gedragswijkingen ook darmproblemen hebben waargenomen. Inderdaad, zijn darmproblemen een vaak voorkomend fenomeen bij autistische patiënten. Er wordt gesuggereerd dat deze darmproblemen een allergische achtergrond hebben en studies laten zien dat een gluten en melk vrij dieet een positief effect zou kunnen hebben op het autistische gedrag. In een muizenmodel voor voedselallergie hebben we laten zien dat allergische muizen vergelijkbare gedragsafwijkingen

laten zien als het muizenmodel voor autisme.
Doel/hypothese: In deze proef willen we enerzijds onderzoeken wat het effect is van een allergische reactie op de gedragsafwijkingen in de VPA muizen. Anderzijds willen we onderzoeken wat het effect is van een prenatale valproïnezuur blootstelling op de allergische response. We verwachten enerzijds dat een allergische respons de gedragsveranderingen zal versterken en anderzijds dat de pups uit het muizenmodel voor autisme een sterkere allergische response zullen ondervinden. Daarbij willen we onderzoeken of een dieet, dat effect heeft op zowel het zenuwstelsel als het immuun systeem, een beschermend effect kan hebben op zowel de allergie als de gedragsveranderingen.
Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek willen we een bestaand VPA-geïnduceerd muizenmodel voor autisme gebruiken, waarin we in een vorig experiment zowel gedrags- als darmafwijkingen hebben gevonden. In deze dieren zullen we een allergische response initieren en daarbij kijken of dat een negatieve invloed heeft op de gedragsafwijkingen in deze dieren. Daarnaast willen we onderzoeken wat het effect is van een dieet, dat zowel het zenuwstelsel als het immuunsysteem kan beïnvloeden, op zowel de gedragsafwijkingen en de allergische respons. Door de complexe samenwerking van het immuunsysteem met het zenuwstelsel, is het onmogelijk om deze experimenten in weefselkweek (in vitro) te testen.

Titel studie: Het identificeren van de neuronale circuits die eetgedrag reguleren

DEC nummer: 2013.I.01.015

Het identificeren van de neuronale circuits die eetgedrag reguleren
Achtergrond: In deze proef zullen we kijken naar de neuronale netwerken die ten grondslag liggen aan eetgedrag. Dit zullen we doen door dieren bloot te stellen aan verschillende diëten, te weten het restrictiedieet. een belonend dieet (5g chocola per dag) en vet- en suikerrijk dieet. Door na blootstelling aan deze diëten te kijken welke hersengebieden (in)actief zijn ten opzichte van een controledieet, kunnen we kijken welke hersenkernen een rol spelen bij de regulatie van eetgedrag in omgevingen waar het voedselaanbod verschillend is.
Doel/hypothese: Het doel van deze proef is om inzicht te krijgen in de neuronale netwerken die ten grondslag liggen aan eetgedrag. Onze hypothese is dat door blootstelling aan verschillende diëten, verschillende hersenkernen (in)actief worden en dat dit gebeurt door verandering in neuronale innervatie van deze gebieden.
Globale aanpak vraagstelling: We zullen dieren blootstellen aan verschillende diëten; het controle dieet, waar dieren onbeperkt toegang hebben tot standaard voedsel, het restrictiedieet waar dieren beperkt toegang hebben tot voedsel, een belonend dieet (waar ratten toegang hebben tot standaard voedsel en dagelijks 5g chocola) en het vet- en suikerrijk dieet, waar dieren onbeperkt toegang hebben tot suikerwater, vet en standaard voedsel. Daarna zullen we met behulp van celkleuringen bekijken welke hersenkernen (in)actief worden en kijken

naar de innervatie van deze gebieden om een beeld te kunnen vormen van de neuronale netwerken die ten grondslag liggen aan de regulatie van eetgedrag. Omdat we kijken naar neuronale circuits in relatie tot eetgedrag moeten we proefdieren gebruiken, aangezien gedrag alleen in een intact dier te bekijken is.

Titel studie: Effecten van oxytoxine op sociaal gedrag

DEC nummer: 2013.I.01.016

De behandeling van verstoringen in sociaal gedrag met het hormoon oxytoxine
Achtergrond: Autisme is een hersenontwikkelingsstoornis waarbij sociaal gedrag en communicatie ernstig is verstoord. De neurobiologische mechanismen zijn onvoldoende bekend om gerichte behandeling hiervoor te ontwikkelen. Recente studies bij muizen laten zien dat het hormoon oxytoxine een belangrijke rol speelt bij de regulatie van sociaal gedrag.
Doel/hypothese: Het testen van de bijdrage van oxytoxine, een hormoon dat betrokken is bij de regulatie van sociaal gedrag en sociale binding, op verstoord sociaal gedrag in een muismodel met verstoringen in gedrag die lijken op die van autisme.
Globale aanpak vraagstelling: De verbetering in sociale interactie tussen met oxytoxine behandelde en controle behandelde muizen wordt geanalyseerd. Deze vergelijkende studie wordt uitgevoerd in BTBR muizen, waarvan bekend is dat zij verstoord sociaal gedrag laten zien.

Titel studie: Neuronale projecties die ten grondslag liggen aan de regulatie van de energiebalans

DEC nummer: 2013.I.01.017

Neuronale projecties die ten grondslag liggen aan de regulatie van de energiebalans
Achtergrond: In dit onderzoek zijn we geïnteresseerd in neuronale circuits die de energiebalans en eetgedrag reguleren. Het is van belang om deze neuronale circuits bloot te leggen omdat ze ons meer inzicht kunnen verschaffen in het ontstaan van eetstoornissen zoals obesitas en anorexia nervosa. Wanneer we hier meer kennis over hebben wordt het ook mogelijk therapieën tegen deze stoornissen te ontwikkelen.
Doel/hypothese: Het doel van het voorgestelde onderzoek is te onderzoeken wat de rol is van bepaalde neuronale projecties op de regulatie van eetgedrag en energiebalans en dat manipulatie van deze projecties een meetbaar effect gaat hebben op de energiebalans of eetgedragingen.
Globale aanpak vraagstelling: Het is nu mogelijk door middel van virussen zogenaamde DREADD-receptoren tot expressie te brengen op de membraan van specifieke neuronen. Deze receptoren kunnen via een systemisch toe te dienen stofje - CNO - geactiveerd of geremd worden (afhankelijk van het type receptor) en activeren of remmen dan de neuron waarin ze tot expressie komen. De specificiteit van receptorexpressie hangt af van de aanwezigheid van het enzym CRE. Wij kunnen met behulp van een ander virus - het CAVCRE virus - CRE op een specifieke plek tot expressie brengen en dus recepto-

rexpressie bewerkstelligen. Doordat het CAVCRE van de projectiegebieden van een neuron naar het lichaam van het neuron (de oorsprong van de projectie) kan reizen, kunnen we specifiek in bepaalde neuronen CRE tot expressie brengen; alleen in de neuronen die projecteren naar het gebied waar je CAVCRE injecteert, brengen CRE tot expressie. Alleen die neuronen zullen de eerder genoemde DREADD-receptoren dan tot expressie brengen, die wij dan aan- of uit kunnen zetten. Dit maakt het mogelijk om neuronale connecties uit het netwerk te isoleren en vervolgens de functie ervan te bekijken op (eet)gedrag. Dit is nog niet zo lang mogelijk, dus het is heel interessant om te kijken wat de fysiologische functie is van de anatomische projecties die al zolang bekend zijn. Door deze technieken toe te passen in proefdieren, kunnen we belangrijke informatie verkrijgen over de neurobiologische mechanismen die ten grondslag liggen aan normaal en abnormaal gedrag. Aangezien we virussen inbrengen in het brein en neuronale projecties manipuleren, kan dit onderzoek alleen gedaan worden in levende proefdieren.

Vergadering 13 februari 2013

Titel studie: The role of Toll Like receptor 4 in a murine model for Parkinsons disease

DEC nummer: 2013.I.02.019

De rol van de Toll like receptor 4 in darm-brein as betrokken bij de ziekte van Parkinson

Achtergrond: De ziekte van Parkinson (PD) is een ziekte die gekenmerkt wordt door stoornissen in het bewegingsapparaat (traagheid, verminderd bewegen, stijfheid en beven). Naast de motorieke problemen ondervinden Parkinson patiënten talrijke andere symptomen (met name problemen in het maag-darmkanaal) alvorens de stoornissen in het bewegingsapparaat optreden. Deze “non-motorische” symptomen staan op dit moment centraal binnen onderzoek naar de oorzaak van de ziekte van Parkinson. In voorgaande experimenten hebben we aangetoond dat ons muismodel met de ziekte van Parkinson zowel de stoornissen vertoond van het bewegingsapparaat alsook van het maag-darmkanaal. Er is uitgebreid onderzoek gedaan naar de rol van de zogenaamde Toll like receptor 4 in de ontwikkeling van hersenstoornissen die invloed hebben op het bewegingsapparaat. Toll like receptor 4 is een belangrijke receptor in het maag-darmkanaal en speelt een belangrijke rol in de toxische effecten van bacteriën. Er is echter nog geen onderzoek gedaan naar de rol van Toll like receptor 4 bij de ontwikkelingen van PD geassocieerde problemen in het maag-darmkanaal. In deze studie willen wij de rol

van Toll like receptor 4 aantonen om zo een nieuw aangrijpingspunt voor de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen te vinden. Bovendien zal naast deze studie en in samenwerking met Rush University, Chicago USA, ook onderzoek in humane darmbiopten worden gedaan, waarbij ook naar Toll like receptor 4 gekeken wordt, om na te gaan of de effecten gevonden in het darmkanaal in het muizenmodel voor PD vergelijkbaar zijn met de problemen in patiënten met PD.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om de rol van de Toll like receptor 4 te onderzoeken in ontstekingen en neuronale schade in het maag-darmkanaal die optreden na induceren van de ziekte van Parkinson in de muizen. Hiervoor willen we in muizen die geen Toll like receptor 4 hebben de ziekte via het maag-darmkanaal opgang brengen en vergelijken met wild type muizen. Er wordt verwacht dat de behandeling van muizen zonder Toll like receptor 4 zal leiden tot vermindering van de stoornissen in het spijsverteringskanaal.
Globale aanpak vraagstelling: Het diermodel wordt geïnduceerd door orale toediening van rotenone in het maag-darmkanaal. 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 de ziekte van Parkinson bij de mens. Aannemelijk is dat de blootstelling bij de mens aan rotenone via het voedsel gaat. Eerder is aangetoond dat orale toediening van rotenone zowel maag-darmproblemen alsook de karakteristieke symptomen van het bewegingsapparaat kan veroorzaken. In muizen die geen Toll like receptor 4 hebben en in wild type muizen zullen de non-motorische symptomen in het maag-darmkanaal onderzocht worden. Controle groepen krijgen alleen het oplosmiddel van rotenone toegediend. De andere groepen van wild type muizen en Toll like receptor 4 loze muizen, krijgen oraal rotenone toegediend. De verwachting is dat alleen de wild type dieren symptomen van de ziekte van Parkinson ontwikkelen in het maag-darmkanaal, zoals vertraagde maaglediging en ontsteking in de darm, en een milde vorm van stoornissen in het bewegingsapparaat.

Titel studie: De rol van dopamine in een proefdiermodel voor Anorexia Nervosa

DEC nummer: 2013.I.02.020

De rol van dopamine in een proefdiermodel voor Anorexia Nervosa
Achtergrond: Eetstoornissen zoals anorexia nervosa en obesitas zijn een groot probleem in onze maatschappij. We beginnen net te begrijpen welke neuronale systemen betrokken zijn bij de pathologie van deze ziekten. Om therapieën te ontwikkelen die deze aandoeningen kunnen verlichten dan wel genezen zullen we meer kennis moeten hebben over de invloed van deze systemen op de ontwikkeling van eetstoornissen.
Doel/hypothese: We weten dat een bepaald neurotransmitter systeem betrokken is bij de ontwikkeling van anorexia nervosa, te weten het dopaminerge systeem. In een diermodel willen we vooral kijken naar bepaalde kenmerken van anorexia nervosa; hyperactiviteit en lage voedselinname, gedragingen die met dopamine geas-

socieerd zijn. Door het dopaminerge systeem aan of uit te zetten hopen we hyperactiviteit en voedselinname te veranderen in dit diermodel.
Globale aanpak vraagstelling: We zullen dieren blootstellen aan het activity-based anorexia model, waar dieren onbeperkt toegang hebben tot een loopwiel en beperkt toegang hebben tot voedsel. Wanneer deze dieren niet behandeld worden, verkiezen ze loopwielactiviteit en is de voedselinname heel laag. Hierdoor verliezen de dieren gewicht. We hopen met het aan- of uitzetten van het dopaminerge systeem dit proces te versnellen of te vertragen en zo inzicht te krijgen in de functie van het dopaminerge systeem in relatie tot anorexia nervosa. De DREADD technologie die wij gebruiken is uitermate geschikt hiervoor omdat we met minimale interventie (een klein prikje in de buikholte) heel specifiek de dopaminerge neuronen kunnen aan- of uitschakelen. Omdat we naar gedrag kijken is het alleen mogelijk te doen in proefdieren.

Titel studie: De rol van MICAL-eiwitten in de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan de ontwikkeling van neuronale netwerken

DEC nummer: 2013.I.02.021

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 is van gedragsstoornissen als autisme en schizofrenie. Bij een muis die het MICA- 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 hersenstructuur. Muizen die MICAL-eiwitten 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 vervolgstudie 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 twee muizenstammen die beiden een ander MICAL-eiwit missen, maar hetzelfde defect hebben in de aanleg van deze hersenstructuur. We vermoeden dat dit defect waarschijnlijk te maken heeft met een verkeerd transport van bepaalde eiwitten van de plek waar ze gemaakt worden, naar de plek waar ze hun uiteindelijke functie uitoefenen. Hoewel het uiteindelijke defect in de aanleg van bepaalde hersenbanen in deze beide stammen hetzelfde is, hebben de twee eiwitten uit de MICAL-familie elk een eigen functie in het eiwittransport mechanisme. Om te onderzoeken hoe dit transport precies is aangedaan, welke eiwitten het betreft, en of dit verschillend is in beide muizenstammen willen we cellen kweken van pasgeboren muizenpups. Het vooronderzoek hebben

we gedeeltelijk gedaan in een cellijn om proefdieren te sparen. Nu hebben we hersencellen van proefdieren nodig om de complexe mechanismen van het transport van eiwitten, wat in hersencellen heel specifiek verloopt, te bestuderen.

Titel studie: Dopamine neuronen en voedselkeuze; calorieën versus smaak

DEC nummer: 2013.I.02.022

Dopamine neuronen en voedselkeuze; calorieën versus smaak
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 keuze en motivatie om te eten nemen dan de controle van eetgedrag over. Door te kijken naar de hersencellen die actief worden tijdens dit keuze gedrag, krijgen we een beeld van de neuronen die een rol spelen bij de motivatie om te eten. Dit brengt de onderzoekswereld een stap dichter bij het ontrafelen van de processen die een rol spelen bij de regulatie van eetgedrag en die verstoord zijn in mensen met een eetstoornis.
Doel/hypothese: Dit onderzoek heeft tot doel het onderzoeken van de functie van neurale activiteit voor voedselkeuze en motivatie.
Globale aanpak vraagstelling: Ratten worden getraind in een kooi waar twee 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 we kijken of de hersencellen (anders) reageren op de voedingswaarde van de beloning of de smaak. Daarnaast zullen wij onderzoeken of hormonen die de voedselinname reguleren ook betrokken zijn bij beloningen die geen voedingswaarde hebben. Dit experiment kan alleen in dieren uitgevoerd worden, omdat we kijken naar het gedrag in combinatie met neurale activiteit in de hersenen. Hierdoor hopen we meer inzicht te krijgen in de processen die een rol spelen in obesitas en anorexia nervosa.

Titel studie: Kunnen mesenchymale stamcellen de lange termijn hersenschade en gedrags afwijkingen na een subarachnoidale bloeding remmen?

DEC nummer: 2013.I.02.023

Kunnen mesenchymale stamcellen de lange termijn hersenschade en gedrags afwijkingen na een subarachnoidale bloeding remmen?
Achtergrond: Hersenbloedingen (Subarachnoidale bloedingen (SAB)) komen bij relatief jonge patiënten voor en zijn een belangrijke oorzaak van sterfte en handicaps en regelmatig lijden patiënten naderhand aan cognitieve problemen. 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: Wij hebben in een vorig onderzoek gezien dat de toediening van stamcellen zes dagen na de SAB in ratten zorgt dat er minder hersenschade is en beter motorisch gedrag drie weken na de SAB. Om te kijken of we de hersenschade nog meer kunnen beperken willen we op drie verschillende tijdstippen stamcellen toedienen. Onze hypothese is dat de stamcellen bij drie toedieningen niet alleen herstellend maar ook beschermend werken en daardoor de hersenschade nog meer beperkt is.
Globale aanpak vraagstelling: Bij ratten veroorzaken we een hersenbloeding volgens een procedure die goed onderzocht is. Vervolgens behandelen we de ratten met mesenchymale stamcellen na drie, zes en twaalf dagen. Vervolgens meten we het effect van de behandeling op de hersenschade en op gedrag drie weken na de hersenbloeding. Dit vergelijken we met dieren die één keer met stamcellen zijn behandeld of met een controle vehicle zijn behandeld.

Titel studie: Preclinical studies on the validation of the use of TrkB antibody in the treatment of anorexia nervosa related symptoms

DEC nummer: 2013.I.02.024

Preklinische studies op de validatie van het gebruik van TrkB antilichaam bij de behandeling van anorexia nervosa symptomen
Achtergrond: Eetstoornissen zijn complexe psychiatrische aandoeningen waar patiënten allerlei gedragseigenschappen vertonen, zoals verhoogde angst, hyperactiviteit en obsessieve en compulsieve gedragingen en veranderde eetlust. Anorexia Nervosa is een ernstige ziekte die zich voornamelijk ontwikkelt in jonge vrouwen (15-19 jaar) en heeft een sterftecijfer van 10-15%. Nieuwe behandelmethodes zijn hard nodig om deze ziekte te bestrijden. Een van de nieuwe potentiele behandelmethodes voor anorexia is het gebruik van antilichamen. Deze antilichamen kunnen de onderliggende biologische processen die mogelijk verantwoordelijk zijn voor deze ziekte veranderen.
Doel/hypothese: Doel van deze studie is het onderzoeken of anorexia nervosa gerelateerde gedragingen in een muis gedragsmodel beïnvloed kunnen worden door middel van behandeling met TrkB antilichamen.
Globale aanpak vraagstelling: Nieuw ontwikkelde farmaca worden getest in muizen. De anorexia nervosa gerelateerde gedragingen in de muis worden geobserveerd en het effect van behandeling met een nieuw farmaca op deze gedragingen wordt onderzocht. De effecten op lichaamsgewicht, voedselinname en lichaamsbeweging worden in muizen bestudeerd.

Titel studie: The effect of MSC treatment on neonatal hypoxic ischemic brain injury after sensitisation with LPS

DEC nummer: 2013.I.02.025

Effect van MSC behandeling 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 onvolledig 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. In een eerdere studie hebben we stamcellen via de neus toegediend na hersenschade. Uit deze studie bleek dat de muizen na de behandeling met stamcellen verbeterde motor functie hadden. Ook was er een afname van het schadegebied na de behandeling. Middels deze vervolgaanvraag wordt onderzocht wat het effect is van stamcel behandeling in een hersenmodel waarin er meer schade is door een ontstekingsreactie. Dit is belangrijk omdat het een goede behandeling zou zijn voor baby's die geboren worden met een slechte start en een ontsteking. Daarbij willen we onderzoeken hoe de stamcellen werken en of ze ook de ontsteking kunnen remmen.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is onderzoeken wat het effect is van stamcel behandeling, op HI hersenschade bij pasgeboren muizen met een ontsteking, waarbij ontsteking een grotere rol speelt.

Globale aanpak vraagstelling: De muizen krijgen een injectie met een vloeistof welke een ontstekingsreactie veroorzaakt. Daarna wordt het zuurstofgebrek in de hersenen nagebootst in pasgeboren muizen. De muizen worden hierna behandeld met stamcellen via de neus op meerdere dagen of met een oplosmiddel. Er wordt vervolgens op meerdere tijdstippen gekeken naar de invloed op ontstekingscellen en celdood, hersenschade en functioneel gedrag.

Titel studie: Sekseverschillen bij varkens in een cognitieve hole-board test en een cognitieve bias test

DEC nummer: 2013.I.02.026

Verschillen tussen mannelijke en vrouwelijke varkens in een cognitieve holeboard test en een cognitieve bias test

Achtergrond: Door de industrialisatie van de varkenshouderij verandert de omgeving waarin de varkens gehouden worden. Zo wordt het voeren van de dieren steeds vaker met automatische voermachines gedaan, in plaats van door de boer zelf. Dit soort veranderingen kunnen invloed hebben op het welzijn van de varkens. Als zij zich niet goed kunnen aanpassen aan de nieuwe elementen in hun omgeving, heeft dit negatieve gevolgen voor het welzijn. De varkens zouden bijvoorbeeld een toename in stress in hun dagelijks leven kunnen ervaren. Het is echter ook mogelijk dat industriële

ontwikkelingen een positief effect op het welzijn van de varkens kunnen hebben. Zo zou het werken met een voermachine bijvoorbeeld verveling kunnen verminderen. Of varkens een positief of negatief effect ondervinden door de veranderingen in hun leefomgeving is onder andere afhankelijk van hun leervermogen, geheugen en emotionele staat.
Doel/hypothese: Doel van dit onderzoek is het vergaren van kennis over het leervermogen en geheugen van varkens. Er wordt hierbij specifiek aandacht besteed aan eventuele verschillen tussen mannelijke en vrouwelijke varkens. De hypothese van het onderzoek luidt dat er geen verschillen zijn in leervermogen en geheugen tussen mannelijke en vrouwelijke varkens.
Globale aanpak vraagstelling: Twee groepen varkens (mannen en vrouwen) zullen na het spenen (wanneer ze niet meer afhankelijk zijn van de zeug) in een verrijkte omgeving opgroeien. Dit houdt in dat ze stro als bodemmateriaal hebben om in te wroeten en steeds wisselend speelgoed tot hun beschikking hebben (zoals takken, jute zakken en ander speciaal varkensspeelgoed). De groepen worden vervolgens in twee verschillende experimenten getest. De eerste hiervan is de cognitieve holeboard test, waarbij de varkens naar beloningen (in de vorm van voedsel) moeten zoeken die verstopt zijn op verschillende plekken in de testruimte. Deze test is voor de varkens een uitdaging op het gebied van hun leervermogen en geheugen. Het tweede experiment bestaat uit de cognitieve bias test. Hierbij wordt wederom met voedselbeloningen gewerkt, ditmaal om een beeld te krijgen van de algemene emotionele toestand van de varkens (optimistisch dan wel pessimistisch). De varkens worden getraind om een hoge toon met een grote beloning te associëren, waardoor deze toon als positief signaal zal worden ervaren. Een lage toon wordt met een geringe beloning geassocieerd en zal dus als negatief worden ervaren ten opzichte van de hoge toon. Tijdens de test krijgen de varkens nieuwe tonen te horen, die qua geluid tussen het positieve en negatieve signaal in liggen. De varkens zullen vervolgens een grote beloning (positieve instelling) of een kleine beloning (negatieve instelling) verwachten.

Titel studie: De rol van dynamische microtubuli in de structuur en het functioneren van dendritische spines

DEC nummer: 2013.I.02.027

De rol van het cytoskelet in de communicatie tussen zenuwcellen
Achtergrond: Ons brein is dynamisch en flexibel, zodat we ook op oudere leeftijd kunnen leren en herinneringen kunnen blijven opslaan. Deze flexibiliteit is vooral te zien in de synapsen, de contactpunten tussen de zenuwcellen. Bij herhaaldelijk activeren van de synapsen treedt versterking op. Dit gaat gepaard met structurele en functionele veranderingen en wordt synaptische plasticiteit genoemd. Deze synapsen zitten aan het uiteinde van kleine uitsteeksels, spines genoemd. De morfologie van deze spines, klein en smal of groter en breed, wordt bepaald door het cellulaire geraamte (cytoskelet, de botten en het kraakbeen van de cel die vooral zorgen voor versteviging en flexibiliteit van de cel). Recent onderzoek heeft aangetoond dat microtubuli, een belangrijk onder-

deel van dit cytoskelet, na activatie van de synapsen de spines in kunnen komen, wat mogelijk bijdraagt tot de synaptische plasticiteit. Wij willen het belang van deze microtubuli in de spines en de rol die dit speelt in de synaptische plasticiteit gaan bestuderen in hersenplakjes.
Doel/hypothese: Met dit onderzoek proberen we beter te begrijpen wat de rol van het cytoskelet is in de synapsen, de contactpunten tussen zenuwcellen. Het voornaamste wat wij willen onderzoeken is welk specifiek signaal ervoor zorgt dat de microtubuli de spines binnen komen en wat het structurele en functioneel effect hiervan is op de synapsen.
Globale aanpak vraagstelling: Alle dierexperimenten zijn hetzelfde omdat alle manipulaties worden gedaan op in kweek gebrachte hersenplakjes na decapitatie van de ratten. We doen vervolgens al onze experimenten in de hersenplakjes 1-3 weken na de decapitatie. In de hersenplakjes zullen verschillende DNA constructen gebracht worden, waardoor de zenuwcellen bepaalde fusie-eiwitten zullen maken, of juist specifieke eiwitten geïnactiveerd zullen worden. Hierdoor kunnen de functies van deze eiwitten, en hun onderlinge interacties, bestudeerd worden. Vervolgens zullen de zenuwcellen op verschillende manier worden geactiveerd of gedeactiveerd (met chemische stoffen en/of elektrische pulsen) waarna het effect op het cytoskelet in de synapsen wordt bestudeerd. We gebruiken hiervoor een speciale microscoop, waarmee we nauwkeurig de verandering in processen van de contactpunten 'live' kunnen volgen. Daarnaast maken we gebruik van hoge resolutie microscopie om in groot detail de morfologie van de contactpunten te bestuderen.

Titel studie: Aandachtsvoorkeur voor alcohol

DEC nummer: 2013.I.02.028

Aandachtsvoorkeur voor alcohol
Achtergrond: Alcoholverslaving is een groot medisch en maatschappelijk probleem waar nog geen adequate farmacotherapie voor beschikbaar is. Een van de grootste problemen bij de behandeling van verslavingen is de hoge mate van terugval onder patiënten. Recent humaan onderzoek wijst uit dat verslaafden een verhoogde aandacht hebben voor stimuli die geassocieerd zijn met de stof waaraan ze verslaafd zijn: er is sprake van zogenaamde aandachtsvoorkeur. Bovendien blijkt het afleren van deze zogenaamde aandachtsvoorkeur voor bijvoorbeeld alcohol een positief effect kan hebben op de behandeling van verslaving. Wij willen neurobiologisch onderzoeken hoe deze aandachtsvoorkeur tot stand komt en hersteld kan worden.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om te bepalen of ratten, net als mensen, een aandachtsvoorkeur voor alcohol-gerelateerde stimuli ontwikkelen.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie gaan we ratten alcohol laten drinken in hun thuiskooi en gaan we bepalen welke dieren veel of weinig alcohol drinken. Vervolgens gaan we voor deze dieren bepalen of de ratten die veel alcohol drinken een aandachtsvoorkeur hebben voor een lampje dat ze in verband hebben gebracht met alcohol. Alcoholverslaving is een complexe hersenziekte. De complexe gedragsveranderingen en neurobiologische processen die ten grondslag liggen aan

het ontstaan van alcoholverslaving kunnen niet alleen bestudeerd worden met behulp van celkweek of computermodellen.

Vergadering 13 maart 2013

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

DEC nummer: 2013.I.03.030

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 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 door in muizen heel specifiek bepaalde connecties uit te schakelen of specifieke moleculen te verwijderen en het effect hiervan vervolgens te analyseren. Vanwege de complexiteit van dit systeem zijn cellijnen ongeschikt.

Titel studie: Role of GRK2 and Epac1 in visceral bladder pain and referred hyperalgesia

DEC nummer: 2013.I.03.031

Rol van GRK2 en Epac1 in de ontwikkeling van viscerale pijn

Achtergrond: Viscerale pijn, pijn in de viscera zoals blaas en darmen, is een veelvoorkomend klinisch probleem en deze vorm van pijn is moeilijk te behandelen, vooral omdat niet bekend is welke mechanismen er aan ten grondslag liggen. In eerdere studies is laten zien dat de moleculen GRK2 en Epac1 belangrijke regulatoren zijn van ontstekingspijn en dat door GRK2 te verhogen chronische ontstekingspijn voorkomen kan worden. Het is onbekend of deze mechanismen ook een rol spelen bij viscerale pijn, zoals blaaspijn.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om de rol van GRK2 en Epac1 te onderzoeken in viscerale blaaspijn.

Globale aanpak vraagstelling: Blaaspijn wordt geïnduceerd door middel van een eenmalige injectie van cyclophosphamide. De afbraakproducten van cyclophosphamide komen in de blaas terecht en veroorzaken blaaspijn. De blaaspijn zal worden gemeten door middel van gedragsobservaties. Het verloop van blaaspijn zal worden getest in knockout muizen met verlaagd GRK2 of verlaagd dan wel afwezigheid van Epac1. Wij zullen het eiwitniveau van GRK2 en Epac1 evalueren na de inductie van blaaspijn. Op basis van positieve resultaten van de boven genoemde experimenten zal getest worden of het opreguleren GRK2 eiwit expressie in sensorische neuronen viscerale pijn kan remmen.

Titel studie: Practicum Psychofarmacologicsh dieronderzoek

DEC nummer: 2013.I.03.032

Practicum gedragsfarmacologie in de rat

Achtergrond: Studenten van het College of pharmaceutical sciences worden opgeleid tot biomedische onderzoekers. In een groot deel van het onderzoek op dit gebied worden proefdieren gebruikt. Het is voor deze studenten van het grootste belang dat ze weten en ervaren hoe het is om met proefdieren te werken, hoe farmaca verschillende aspecten van een dier en diergedrag kan beïnvloeden. Bovendien geeft het zelf uitvoeren van een experiment met een dier een goede indruk van wat medicatie allemaal kan veranderen in een levend organisme. De studenten zullen ook leren wat het verschil is tussen een algemene indruk die ze krijgen door de rat te observeren, op te pakken en de specifieke antwoorden die een gedragstest kunnen geven. Tevens leren de studenten de mate van ongerief inschatten tijdens een experiment.

Doel/hypothese: Er zullen verschillende farmaca (benodiazepine, imipramine, amfetamine) worden toegediend (door een ervaren en bevoegde zoölogisch analist) aan ratten. Vervolgens zullen studenten een aantal testen met de dieren uitvoeren: observatie in een kooi, handeling van de dieren, op een schuine helling zetten, in een openveld zetten, rotarod test en de porshold zwemtest.

De studenten leren hier:

1. wat het betekend om met levende dieren te werken;
2. hoe psychofarmaca tot veranderingen in gedrag kunnen leiden;
3. dat er individuele verschillen zijn in de reactie van dieren bij gedragstesten;
4. wat een gedragstest betekend voor een rat en
5. het inschatten van ongerief voor een dier tijdens een gedragstest.

Aan het einde van het practicum zullen de studenten een verslag schrijven van de experimenten waarbij ze de verkregen data moeten interpreteren en bediscussiëren met betrekking tot humaan gedrag en de waarde en betekenis van de testen voor psychofarmacologisch onderzoek. Tevens zullen ze een inschatting moeten maken van het ongerief voor het dier tijdens de gedragstest.
Globale aanpak vraagstelling: De ervaring van dit practicum leert de studenten om een inschatting te kunnen maken van de wetenschappelijke waarde van gedragstesten en farmacologische dierexperimenten. Ook het inschatten van het ongerief voor het dier wordt behandeld. De studenten van het College of pharmaceutical sciences zullen in de toekomst betrokken zijn bij het ontwikkelen en uitvoeren van farmacologisch onderzoek waarbij zeer waarschijnlijk dieren gebruikt zullen worden. Het is dan van groot belang, voor een goede wetenschappelijke en ethische afweging, dat ervaring is opgedaan met proefdieren en in het bijzonder dat er aandacht besteed is aan het gedrag en welzijn van dieren tijdens een experiment.

Titel studie: Het effect van het autisme gerelateerde gen Cntn5 op het ontwikkelend muizen brein

DEC nummer: 2013.I.03.033

De rol van een autisme-risico gen (Cntn5) in het ontwikkelend brein
Achtergrond: Autisme is een ernstige neuropsychiatrische aandoening. Onderzoek in voorgaande jaren heeft gewezen op een aantal risicogenen, waarvan bekend is dat mutaties tot autisme kunnen leiden. Cntn5 is een van deze genen. Onderzoek naar de functie van Cntn5 in het ontwikkelende brein zal bijdragen aan inzicht in de neurobiologie van autisme en opent de mogelijkheid tot betere diagnose en behandeling.
Doel/hypothese: Het bestuderen van de consequenties van afwijkende eiwitconcentraties van het risicogen Cntn5 zal ons een idee geven over de functie van het eiwit en daarmee een 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 geselecteerde gen (Cntn5) in celkweek, zullen resultaten moeten worden bevestigd in muizenhersenen. Muizen zullen worden geëuthanaseerd en de hersenen zullen worden verwijderd. Biologische processen en hersenstructuren zullen postmortem worden onderzocht, bijv. door het kleuren van eiwitten in dun gesneden hersenplakken van de muis. De muislijnen waarin een bepaald gen geïnactiveerd is, zijn zeer waardevol voor het onderzoeken naar de functie van dat gen in de ontwikkeling van de hersenen en in het ontstaan van autisme.

Titel studie: Zoeken naar koortconvulsiegevoeligheidsgenen

DEC nummer: 2013.I.03.034

Het identificeren van genen en mechanismen van koortsconvulsiegevoeligheid in muizen

Achtergrond: Kinderen tussen 6 maanden en 5 jaar oud 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 (o.a. stress), willen wij hier meer onderzoek naar doen.

Doel/hypothese: Het identificeren van genen en mechanismen (o.a. stress) die de gevoeligheid voor koortsconvulsies bepalen. Dit kan er toe leiden dat mensen die 'at risk' zijn preventief medicatie krijgen, waardoor de ontwikkeling van epilepsie geremd kan worden.

Globale aanpak vraagstelling: Bij muizen worden koortsstuipen opgewekt door de lichaamstemperatuur langzaam te verhogen, door ze bloot te stellen aan warme lucht. In eerder onderzoek zijn kandidaatgenen gevonden die een rol spelen bij het ontwikkelen van koortsstuipen in muizen. De precieze rol van deze kandidaatgenen en van omgevingsfactoren (stress) op het ontwikkelen van koortsstuipen testen we in muizen door de aanwezigheid van deze genen en omgevingsfactoren te manipuleren en te kijken of deze muizen dan minder gevoelig zijn voor koortsstuipen en het ontwikkelen van epileptische afwijkingen.

Titel studie: Consequences of very low birth weight in piglets on cognitive holeboard performance

DEC nummer: 2013.I.03.035

Consequenties van lage geboortegewicht voor cognitie in varkens

Achtergrond: Pasgeboren varkens zijn een goed model voor pasgeboren baby's vanwege gelijkenissen in hersenontwikkeling, fysiologie, en formaat. Een laag geboortegewicht is een probleem zowel in de mens als in de varkenshouderij. Een laag geboortegewicht wordt in de mens o.a. geassocieerd met minder voorspoedige cognitieve ontwikkeling. In de varkenshouderij worden steeds vaker dieren met een laag geboortegewicht geboren vanwege het toenemend aantal biggen per toom. Uit eerder onderzoek is gebleken dat dieren met een laag geboortegewicht later problemen vertonen met werkgeheugen in situaties waarbij het dier zijn gedrag moet aanpassen. Ons voorgaande onderzoek is gedaan met dieren met een iets te laag geboortegewicht. In het huidige onderzoek kijken we naar dieren met fors ondergewicht bij de geboorte.

Doel/hypothese: Het doel is om het effect van zeer laag geboortegewicht op het latere cognitieve functioneren van biggen vast te stellen. Dit zal zowel mens als dier dienen. Voor de mens kan het als model dienen voor

baby's met een laag geboortegewicht. Voor het dier wordt inzicht verkregen in lange termijn gevolgen van laag geboortegewicht.
Globale aanpak vraagstelling: Dieren met een zeer laag geboortegewicht zullen nauw gevold worden gedurende de eerste dagen na de geboorte om ervoor te zorgen dat ze deze kritieke periode overleven. Vervolgens zullen deze dieren getest worden in een zgn. cognitieve holeboard taak. Hierbij kunnen de dieren in een arena zoeken naar beloners (bv. rozijnen of banaan) die op specifieke locaties liggen. Vervolgens wordt gemeten hoe lang het duurt voordat de dieren leren dat de beloners elke keer op dezelfde plek liggen (het lange-termijn geheugen), en of de dieren dat kunnen onthouden binnen een trial waar ze al geweest zijn (het korte-termijn geheugen). Onderzoek naar cognitie is alleen uit te voeren met dieren en kan helaas niet met in vitro of in silico modellen vervangen worden.

Titel studie: Het effect van LPS op gefosforyleerd SERT, DAT en NET in de prefrontale cortex en striatum van ratten

DEC nummer: 2013.I.03.036

Uitzoeken of activatie van het immuunsysteem leidt tot meer activatie van monoamine transporters in de hersenen
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 vorming van afbraakproducten van signaalstoffen in de hersenen. Er zijn sterke aanwijzingen dat dit komt door een toegenomen activatie van de monoamine transporters. Monoamine transporters zijn verantwoordelijk voor de heropname van de signaalstoffen, waardoor het signaal stopt en signaalstoffen kunnen worden afgebroken. We willen meten of de monoamine transporter activiteit inderdaad toeneemt door activatie van het immuunsysteem.
Doel/hypothese: In dit onderzoek willen we uitzoeken of LPS inderdaad leidt tot meer geactiveerde (= gefosforyleerde) monoamine transporters in de hersenen.
Globale aanpak vraagstelling: Ratten worden blootgesteld aan een stofje, LPS, dat het immuunsysteem activeert. 4 Uur later worden de dieren gedood, de breintjes verwijderd en meten we in het laboratorium of de hoeveelheid gefosforyleerde monoamine transporters daadwerkelijk is toegenomen in dieren die zijn blootgesteld aan LPS.

Titel studie: The role of dopamine in depression-related behaviours

DEC nummer: 2013.I.03.037

De rol van dopamine in depressief gedrag
Achtergrond: Depressie is een veelvoorkomende en zeer belastende ziekte. Er is echter nog altijd veel onbekend over de oorzaak van de aandoening, en veel patiënten genezen niet of niet volledig met de huidige behandelingen. Aan de hand van eerdere studies en antidepressieve medicaties weten we dat bepaalde boodschapperstoffen

in de hersenen betrokken zijn bij de stoornis. Tot nu toe werd met name gekeken naar de rol van serotonine, een van deze stoffen. Er lijkt echter ook een belangrijke rol te zijn voor dopamine, een stof die onder andere betrokken is bij gevoeligheid voor beloningen.
Door twee technieken te combineren, kunnen we specifiek de activiteit van dopaminecellen in het brein beïnvloeden en zo onderzoeken hoe deze activiteit depressief gedrag kan veranderen. Hiermee kunnen we nieuwe inzichten verkrijgen in de hersenprocessen die gerelateerd zijn aan depressieve symptomen, en kunnen we bijdragen aan de ontwikkeling van nieuwe effectieve behandelingen.
Doel/hypothese: Meer inzicht verkrijgen in de neurobiologische processen die depressie kunnen veroorzaken. In dit onderzoek testen we of een specifieke afname in dopaminerge activiteit kan leiden tot depressieve symptomen. Wij verwachten hierbij dat een verlaagde activiteit van dopaminecellen depressief gedrag kan veroorzaken. Tevens onderzoeken we in welke mate de huidige antidepressiva deze effecten beïnvloeden.
Globale aanpak vraagstelling: Aan de hand van moderne technieken kunnen we de activiteit van dopamineneuronen in het rattenbrein beïnvloeden en daarbij het gedrag van het vrijelijk bewegende dier observeren. Dit is alleen mogelijk in proefdieren, aangezien we een intact organisme nodig hebben om gedrag te kunnen meten en de manipulaties die we uitvoeren in het brein niet mogelijk zijn bij mensen.

Titel studie: De rol van semaphorin 7A tijdens ontwikkeling van zenuwen in volwassen hersenen

DEC nummer: 2013.I.03.038

De rol van semaphorin 7A tijdens ontwikkeling van zenuwen in volwassen hersenen
Achtergrond: Tijdens de ontwikkeling van de hersenen zijn verscheidene stoffen van groot belang voor het aanleggen van zenuwcontacten binnen dit orgaan. Tot deze stoffen behoren onder andere axon guidance eiwitten (AGEs), welk als taak hebben de zenuwuitlopers naar het juiste doelgebied elders in de hersenen 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 AGEs nog steeds geproduceerd worden en wat de rol(-len) is van deze groep eiwitten in de volgroeide hersenen.
Celdeling (proliferatie) en aanmaak van nieuwe zenuwen (neurogenese) in de volgroeide hersenen vind slechts plaats in twee niches: de subventriculaire zone en de subgranulaire zone. In deze twee niches worden op kleine schaal nieuwe cellen aangemaakt, welke vervolgens integreren in de hersenen. Hoewel dit sinds de jaren vijftig al bekend is, weet men weinig van de precieze mechanismen die proliferatie en neurogenese reguleren. In het voorgaande onderzoek hebben we ontdekt dat Sema7A, een axon guidance eiwit (AGE), belangrijk is voor de celdeling. Wanneer muizen dit eiwit missen is de celdeling in de subgranulaire zone verhoogt. Volgens

de literatuur integreren de zenuwcellen in het bestaande netwerk van zenuwen en dragen ze functioneel bij aan het gedrag van het netwerk, de hersenen en het dier. Voor dit proces zullen hoogstwaarschijnlijk ook AGEs belangrijk zijn om de uitlopers van de nieuwe zenuwen naar de juiste plekken te leiden zoals dat tijdens de vroege ontwikkeling op grote schaal plaatsvindt.
Doel/hypothese: In dit vervolgonderzoek bestuderen wij in hoeverre Sema7A belangrijk is voor de ontwikkeling van zenuwcellen, geboren in de volwassen hersenen. Sema7A stimuleert de uitgroei van uitlopers. Bij afwezigheid van Sema7A is daarom minder groei te verwachten. Onze hypothese is dat in hersenen zonder Sema7A zenuwen, geboren in volwassen hersenen, minder ver uitgroeien en minder integreren in het bestaande zenuwnetwerk. Dit heeft als gevolg dat deze zenuwen minder functioneel actief zijn dan vergelijkbare zenuwen in normale hersenen.
Globale aanpak vraagstelling: Om te onderzoeken in hoeverre Sema7A belangrijk is voor de ontwikkeling van zenuwcellen maken we gebruik van een techniek om deze unieke cellen te visualiseren met behulp van een fluorescent eiwit. Door gebruik te maken van een genetisch gemodificeerd virus kunnen wij enkel nieuwe zenuwcellen het fluorescente eiwit laten maken in de volwassen hersenen. Dit virus is dusdanig genetisch gemodificeerd dat het dier er niet van ziek wordt of virus kan overdragen aan de omgeving. Met deze techniek kunnen we vervolgens een vergelijking maken tussen muizen die wel of geen Sema7A aanmaken. Door beide muizen te injecteren met het virus, kunnen we volgen hoe de zenuwen zich ontwikkelen in een omgeving met en zonder Sema7A. Het virus wordt lokaal in de hersenen geïnjecteerd en na 2 en 8 weken worden de dieren gedood en de hersenen verwijderd en in plakken gesneden. Vervolgens kunnen we met een microscoop precies volgen hoe zenuwen, geboren in volwassen hersenen, zich ontwikkelen. Hierbij bestuderen we de morfologie en de functie van de cel met behulp van microscopie. Om de integratie van nieuwe zenuwen in een bestaand netwerk goed te volgen is het belangrijk dat het onderzoek in volwassen hersenen plaatsvindt. Dit is moeilijk te vervangen met behulp van celcultures zonder proefdieren.

Titel studie: Studie naar de verschillen van varkens die na het spenen in een verrijkte of kale omgeving opgroeien in een cognitieve bias test

DEC nummer: 2013.I.03.039

Studie naar de effecten van het opgroeien in een kale of verrijkte omgeving op de emotionele staat van varkens
Achtergrond: Door de industrialisatie van de varkenshouderij verandert de omgeving waarin de varkens gehouden worden. Zo worden varkens steeds vaker met automatische voermachines gevoerd, in plaats van door de boer zelf. Dit soort veranderingen kan invloed hebben op het welzijn van de varkens. Als zij zich niet goed kunnen aanpassen aan de nieuwe elementen in hun omgeving, heeft dit negatieve gevolgen voor het welzijn. De varkens zouden bijvoorbeeld een toename in stress in hun dagelijks leven kunnen ervaren. Het is echter ook mogelijk dat industriële ontwikkelingen een positief

effect op het welzijn van de varkens kunnen hebben. Zo zou het werken met een voermachine bijvoorbeeld verveling kunnen verminderen. Of varkens een positief of negatief effect ondervinden door de veranderingen in hun leefomgeving is onder andere afhankelijk van hun emotionele staat.

Doel/hypothese: Er zullen twee groepen varkens na het spenen op een verschillende manier gehuisvest worden. Een groep zal in een kale omgeving opgroeien die gelijk is aan de omgeving van varkens gehuisvest in de intensieve varkenshouderij. De stal heeft een betonnen vloer, geen stro en de varkens beschikken over een ijzeren ketting in hun hok waar zij op kunnen bijten. De andere groep wordt in een heel verrijkte omgeving opgefokt, met turf als bedding dienend als wroet materiaal. Verder krijgen zij verschillend steeds afwisselend speelgoed in hun stal aangeboden. De hypothese van het experiment is, dat de varkens uit de verrijkte omgeving een optimistischere instelling hebben dan de varkens uit de kale omgeving. Dit zal vervolgens een indicatie zijn voor het welzijn 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 bijtstaaf aan het eind als speelgoed. Alle varkens worden in de cognitieve bias taak getest. Hierbij wordt met voedselbeloningen gewerkt om een beeld te krijgen van de algemene emotionele toestand van de varkens (optimistisch dan wel pessimistisch). De varkens worden getraind om een hoge toon met een grote beloning te associëren, waardoor deze toon als positief signaal zal worden ervaren. Een lage toon wordt met een kleine beloning geassocieerd en zal dus als negatief worden ervaren ten opzichte van de hoge toon. Tijdens de test krijgen de varkens nieuwe tonen te horen, die qua frequentie tussen het positieve en negatieve signaal in liggen. De varkens zullen vervolgens een grote beloning (positieve instelling) of een kleine beloning (negatieve instelling) verwachten, afhankelijk van of ze de toon als meer lijkend op de positieve of negatieve toon ervaren/interpreteren.

Vergadering 10 april 2013

Titel studie: Role of melanocortins in motivation for food reward

DEC nummer: 2013.I.04.040

De rol van melanocortines bij motivatie voor voedsel beloning

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 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) hormoonwaarden 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 dit experiment. Wij bestuderen in ratten het effect van a-MSH (een eetlustremmend hormoon) in het ventrale tegmentale gebied (onderdeel van beloningsgebied) op de motivatie voor een voedselbeloning en op de vrije 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 onderzoek gedaan wordt naar gedrag kan dit alleen in intacte dieren plaatsvinden.

Titel studie: Leptin and downstream signaling cascades implicated in dieting

DEC nummer: 2013.I.04.041

Invloed van leptine in overgewicht en het dieet

Achtergrond: Obesitas is een groeiend wereldwijd probleem. De verschillende soorten diëten die mensen ondergaan om zwaarlijvigheid tegen te gaan, zijn vaak niet succesvol. Dit is misschien te wijten aan een groot aantal fysiologische veranderingen die in het lichaam ontstaan 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 hebben we in ons lab een model ontwikkeld voor dieet geïnduceerde obesitas. Ratten zijn blootgesteld aan een dieet van vetrijk voedsel en een hoge suiker oplossing naast gewoon voer en water. Blootstelling aan dit dieet leidt tot een calorie-overconsumptie, een verhoogt vetgehalte en verhoogde leptine niveaus. Hiermee kunnen alle essentiële kenmerken van menselijke obesitas nagebootst worden. In voorgaand onderzoek hebben we dieren vier weken blootgestelde aan dit dieet gevolgd door 4 weken normaal eten. Interessant is dat na het weghalen van het dieet de dieren hun calorieverbruik verlaagden als ook de lichaamstemperatuur, maar niet de bewegingsactiviteit. Aan het einde van de vier weken hadden deze dieren nog steeds meer vet en hogere leptine niveaus in het bloed dan de controle dieren. Hieruit kunnen we concluderen dat voor de afname van vetweefsel (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 dieren (ratten) die eerst zijn blootgesteld aan een vet-suikerrijk dieet en vervolgens daar vanaf zijn gehaald, hun leptine levels verminderen, waardoor dieren niet minder gaan eten en hun energieverbruik verlagen. Als dieren in de eerste fase na het weghalen van het dieet behandeld worden met leptine zal dit leiden tot een verlaging van de voedselinname en een verhoging van het energieverbruik.
Globale aanpak vraagstelling: In het eerste experiment willen we kijken naar veranderingen in neurale populaties van het brein onder invloed van hoog calorisch dieet. Hiervoor gaan ratten op verschillende dieet schema's, waarna ze geëuthanaseerd worden en het brein voor analyse wordt gebruikt. In het tweede experiment willen we kijken naar de cardiovasculaire effecten en de invloed van het zenuwstelsel. Hiervoor krijgen de ratten een transmitter geïmplanteerd in de buikholte waarmee we 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 we het effect van chronische leptine kunnen meten. Deze bovengenoemde experimenten kunnen alleen in dieren uitgevoerd worden. Gedurende de experimenten wordt het welzijn van de dieren nauwlettend in de gaten gehouden.

Titel studie: Effects of intrahippocampal injection of the cytostatic vincristine on cognition in Long Evans rats

DEC nummer: 2013.I.04.042

Effecten van cytostatica op cognitie in ratten
Achtergrond: Na behandelingen tegen kanker door chemotherapie of radiotherapie, houden veel (voormalige) patiënten helaas problemen over met leren en geheu-

gen. Er is nog maar weinig onderzoek gedaan naar de achterliggende oorzaak van deze teruggang in cognitief vermogen, terwijl dit een probleem is die (voormalige) patiënten in hun dagelijkse leven enorm kan belemmeren.
Doel/hypothese: Deze studie is een eerste aanzet om een onderzoekslijn op te starten met als doel het in kaart brengen van problemen met leren en geheugen na behandeling met chemotherapie. Wij zullen beginnen met het herhalen en uitbreiden van een van de weinige studies die al gedaan is met chemotherapie, door te kijken naar het effect van het inspuiten van het chemotherapie middel vincristine in het brein. Vervolgens zullen wij de effecten op ruimtelijk geheugen en aandacht in kaart brengen.
Globale aanpak vraagstelling: Wij zullen ratten trainen in óf een taak voor ruimtelijke geheugen (de conefield), óf in een taak die aandacht test (de "5-keuze seriële reactietijd test"). Vervolgens zullen wij vincristine in een deel van het brein (de hippocampus) inspuiten; de controlegroep krijgt in plaats van vincristine, een niet-actieve vloeistof ingespoten. Na een herstelperiode zullen de dieren weer getest worden in de gedragstaken, om na te gaan of de behandeling een verslechtering in de uitvoer van de taak teweeg heeft gebracht. Helaas kan onderzoek m.b.t. leren en geheugen uitsluitend in levende dieren getest worden. Deze studie zal een begin maken een vraag te beantwoorden die zeer van belang is voor (ex-) kankerpatiënten, namelijk waar komen de problemen in denkvermogen vandaan?

Titel studie: Anandamide afbraak (FAAH) remmers in het activity-based anorexia (ABA) model

DEC nummer: 2013.I.04.043

Het cannabinoid systeem en Anorexia Nervosa
Achtergrond: Cannabis kan een heilzame werking hebben. Daarnaast wordt het vaak recreatief gebruikt. Mensen die cannabis gebruiken hebben vaak eetbuien en kennen periodes van inactiviteit en zijn dus in zekere zin tegengesteld aan anorexia nervosa (AN) patiënten. Gek genoeg is er nog niet veel bekend over de relatie tussen cannabis en AN. Meer onderzoek is dus nodig om effectieve farmacotherapieën te ontwikkelen die tot op heden niet bestaan.
Doel/hypothese: Doel is om endocannabinoïden (cannabisachtige stoffen die het lichaam zelf maakt en van nature voorkomen in de hersenen) afbraak remmers te gebruiken om de spiegels van endocannabinoïden hoger te krijgen, een effect dat fysiologisch gezien vergelijkbaar is met het roken van cannabis. Door de endocannabinoïde afbraak remmers wordt de afbraak van endocannabinoïden geremd, waardoor deze langer actief zijn en langer op de endocannabinoid 1 receptor werken. Dat is hetzelfde als een stof toedienen die de cannabinoid 1 receptor activeert, bv. THC (een van de actieve stoffen in cannabis), waardoor de endocannabinoid receptor actiever is. We verwachten dat ratten in een diermodel voor anorexia nervosa minder gaan afvallen na toediening van endocannabinoïde afbraak remmers.
Globale aanpak vraagstelling: In een diermodel voor AN worden ratten blootgesteld aan een renwiel waarin

hun normale rengedrag wordt bekeken. Daarna wordt er beperkt voer aangeboden. In plaats van minder te gaan rennen om energie te sparen vanwege voedselschaarste, zullen de meeste ratten ervoor kiezen harder te gaan rennen. We hopen dit gedrag met endocannabinoïde afbraak remmers te beïnvloeden.

Titel studie: Contrast-studie

DEC nummer: 2013.I.04.044

Bepaling van het aantal functionele nier eenheden met MRI

Achtergrond: Mensen die een nier verliezen hebben vaak een verhoogd risico op nierproblemen en op hart- en vaatziekten. Maar hoe zit dat bij kinderen die geboren worden met maar één nier? In Nederland worden er jaarlijks ongeveer 180 kinderen geboren met één nier. Zijn deze enkele nieren overbelast, of bevatten ze meer functionele nier eenheden (nefronen) en kunnen ze op normale kracht werken? Om die vragen te beantwoorden hebben we reeds in samenwerking met een grote slachterij de nieren van 36.000 varkens geanalyseerd. Zeven varkens bleken geboren te zijn met slechts één nier. Deze mononieren bleken de helft meer filtereenheden te bevatten dan de controle nieren. Het aantal valt daarmee binnen de normale variatie van het totaal aantal filtereenheden in twee nieren. Het is tevens bekend dat mannen meer nefronen hebben dan vrouwen en dat de dichtheid van nefronen gedurende het leven afneemt doordat de nefronen compensatoir vergroten. In eerder onderzoek zijn onderzoekers al in staat geweest om het aantal nefronen bij levende dieren te bepalen. Helaas hadden ze hiervoor een erg sterke MRI scanner nodig. Om deze bij dieren bekende feiten bij mensen verder te analyseren en hierop het behandelplan aan te passen, zijn helaas nog niet de technieken aanwezig om dit te doen zonder de nier te verwijderen.

Doel/hypothese: Het kunnen tellen van het aantal nefronen in levende ratten. Het vergelijken van het aantal en de dichtheid van nefronen bij levende jonge en oude dieren. Het vergelijken van het aantal en de dichtheid van nefronen tussen levende mannen en vrouwen. De hypothese is dat we met het contrastmiddel in staat zullen zijn het aantal nefronen te bepalen middels een MRI-scan bij een lagere veldsterkte. Oude dieren hebben evenveel of minder nefronen dan jonge dieren, maar hebben een grotere nier en dus een lagere dichtheid van nefronen. Dit verschil zal groter zijn bij mannen dan bij vrouwen. Mannen hebben meer nefronen dan vrouwen en ook dezelfde dichtheid van nefronen.

Globale aanpak vraagstelling: Ratten zullen een contrastmiddel toegediend krijgen en vervolgens onder de MRI gelegd worden. Dit contrastmiddel kan helaas nog niet aan mensen geven worden, voordat het uitgebreider in dieren is getest. Hiervoor zijn proefdieren helaas noodzakelijk in deze studie.

Titel studie: Effect van corticosteron op de GABA-erge transmissie in de amygdala

DEC nummer: 2013.I.04.045

Heeft het stresshormoon corticosteron invloed op de neurotransmitter die voor een onderdrukking van de activiteit van zenuwcellen zorgt?

Achtergrond: Stressgerelateerde aandoeningen zijn een belangrijke risicofactor voor psychiatrische aandoeningen als depressie, angststoornissen en posttraumatische stress syndroom. Wij zijn geïnteresseerd in de vraag hoe stressvolle situaties en de daarmee gepaard gaande hormonale veranderingen de communicatie tussen hersencellen beïnvloeden. We verwachten met ons onderzoek op termijn een bijdrage te leveren aan de volksgezondheid.

Doel/hypothese: Met dit onderzoek willen we meer inzicht krijgen in de mechanismen die betrokken zijn bij het verwerken van leer- en geheugenprocessen bij emotioneel stressvolle gebeurtenissen. Deze processen spelen zich af in een specifiek hersengebied (de amygdala).

Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek wordt de invloed van het stresshormoon corticosteron op de GABAerge transmissie gemeten. GABA is een belangrijke neurotransmitter die voor een onderdrukking van de activiteit van zenuwcellen zorgt. Met eerdere studies hebben we aangetoond dat de meest belangrijke transmitter die voor een toename in de activiteit zorgt, glutamaat, op twee manieren door corticosteron beïnvloedt kan worden, afhankelijk van de stress geschiedenis. Het is belangrijk om te weten of dat ook bij de GABAerge transmissie het geval is. Deze studie kan belangrijke informatie opleveren voor eventuele behandelingsmethoden van stressgerelateerde aandoeningen. De experimenten worden uitgevoerd met een elektrofysiologische techniek in vers gesneden plakjes hersenweefsel (van muizen). Met deze techniek kan gemeten worden of en hoe corticosteron de GABAerge transmissie beïnvloedt, als het tijdens de meting aan de plak wordt toegediend. Het meten van de activiteit vereist het gebruik van materiaal met een normaal ontwikkeld synaptisch systeem. Dit is een zeer complex systeem dat niet met cellijnen nagebootst kan worden. Synaptische transmissie verandert gedurende embryonale ontwikkeling en daardoor is het gebruik van gekweekte (primaire) cellen en cellijnen niet mogelijk. Verder zijn er zijn geen goede vervangende methoden aanwezig.

Titel studie: Transport processen in zenuwcellen

DEC nummer: 2013.I.04.046

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 transport proces kunnen verschillende klinische kenmerken ontstaan zoals geestelijke achterstand, (eiwitten komen niet -op tijd- naar de contactpunten tussen de zenuwcellen) maar ook neuro-

degeneratieve aandoeningen als Alzheimer, Huntington en Multiple Sclerose als gevolg van eiwitstapelingen in de zenuwcellen.
Doel/hypothese: 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, de interactie van transporteiwitten en de vorming van de contactpunten tussen zenuwcellen.
Globale aanpak vraagstelling: Alle experiment op de proefdieren zijn hetzelfde: alle manipulaties worden gedaan na decapitatie en het op kweek zetten van de zenuwcellen of hersenplakjes van ratten en muizen. Alle experimenten worden vervolgens in de geweekte cultuur en hersenplakjes 1-4 weken na de decapitatie (langer leven de cellen niet) gedaan. In de gekweekte zenuwcellen of hersenplakjes zullen verschillende DNA constructen gebracht worden, waardoor de zenuwcellen bepaalde fusie-eiwitten maken, of de te onderzoeken eiwitten geïnactiveerd worden. Hierdoor kunnen de functies van deze eiwitten, en hun onderlinge interacties, bestudeerd worden. 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 de contactpunten zoals gevonden in primaire zenuwcellen.

Titel studie: Up en downregulatie van DRD2, ETV5 & LeptinR bij cocaine verslaving

DEC nummer: 2013.I.04.047

Verslaving en de hersenen
Achtergrond: Drugverslaving is een enorm klinisch en sociaal-economisch probleem in onze Westerse maatschappij, waarvoor nauwelijks effectieve geneesmiddelen beschikbaar zijn. Dit project beoogt op te helderen welke hersengebieden en signaalstoffen betrokken zijn bij verslavingsgedrag bij ratten. De nadruk zal liggen op drie genen waarvan het sterke vermoeden heerst dat zij een rol spelen bij motivatie voor drugs en eten.
Doel/hypothese: Ophelderen hoe verslaving in de hersenen tot stand komt. Specifiek, wat de rol van drie genen uit het dopamine systeem bij verslaving is.
Globale aanpak vraagstelling: Ratten krijgen de kans om zichzelf cocaïne toe te dienen. Net als bij mensen zal een subgroep van de ratten na verloop van tijd verslaafd gedrag laten zien. Vervolgens wordt gekeken of de grootte van de verslaafde groep beïnvloedt kan worden door drie specifieke genen (alle drie betrokken bij de regulatie van dopamine) ‘aan’ of juist ‘uit’ te zetten. In dit experiment wordt naar gedrag gekeken, waardoor het gebruik van levende dieren noodzakelijk is.

Titel studie: Characterization of the activity of Lgr5 positive cells in culture conditions – test of feasibility

DEC nummer: 2013.I.04.048

Karakterisering van Lgr5 positieve cellen in de cochlea van de muis

Achtergrond: Gehoorverlies als gevolg van degeneratie 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 verkeren nog in een vroeg stadium, maar de resultaten zijn veelbelovend. Een paar studies laten regeneratie van haarcellen zien in kweekbakjes met geïsoleerde cochlea's en zeer specifieke groeifactoren. Een onderzoeksgroep liet expressie en distributie zien van stamcellen in de cochlea van de muis. Dit waren zogenaamde Lgr5 positieve cellen. Dezelfde groep liet later zien dat deze cellen in een kweekbakje haarcellen kunnen worden met de juiste groeifactoren in het medium. Ons doel is het karakteriseren van deze cellen in de cochlea van volwassen muizen. Daaropvolgend willen we onderzoeken of we bioactieve stoffen kunnen vinden die de Lgr5 cellen omvormen tot haarcellen. 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 activiteit van Lgr5 positieve cellen uit de cochlea in een kweekbakje. Daarnaast willen we de agonisten R-spondin1 en Wnt3a gebruiken om de cellen te activeren.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studie zullen we de invloed van bioactieve moleculen op Lgf5-positieve cellen bepalen. Deze informatie kan ons helpen om een therapie voor doofheid bij mensen te ontwikkelen. Eerst zal de lokalisatie van Lgr-positieve cellen in het binnenoor van de muis achterhaald worden met behulp van histologische technieken. Vervolgens wordt geprobeerd om Lgr5-positieve cellen uit het binnenoor door middel van bioactieve moleculen in celkweek aan te zetten tot het veranderen in haarcellen. Er is gekozen voor het gebruik van muizen omdat dit dier het meest gebruikt is bij stamcelonderzoek; de bevindingen kunnen zodoende vergeleken worden met resultaten van andere onderzoeksgroepen. Bovendien is het binnenoor van de muis erg vergelijkbaar met dat van de mens, wat het vertalen van de resultaten naar de humane situatie vergemakkelijkt. Een andere reden is dat het Lgr5eGFP-muismodel inhoudt dat de muizen het eiwit Green Fluorescent Protein aanmaken, dat specifiek bindt aan het eiwit waar we in geïnteresseerd zijn, en daardoor gebruikt kan worden voor het detecteren en isoleren van groen-fluorescerende cellen die dit eiwit bevatten.

Titel studie: Gedrag bij snel- en traag groeiende vleeskuikens

DEC nummer: 2013.I.04.049

Gedrag bij snel-, en traag groeiende vleeskuikens
Achtergrond: Gedrag is een belangrijke informatiebron om het welzijn van dieren te beoordelen. Omdat er nog weinig onderzoek is gedaan naar het gedrag van het reguliere vleeskuiken in vergelijking met het traag groeiende vleeskuiken is dit onderzoek opgesteld om een beter beeld te krijgen over het welzijn van de verschillende vleeskuikens.
Doel/hypothese: Er wordt verwacht dat traag groeiende vleeskuikens minder angstig zullen zijn en betere leerprestaties zullen vertonen dan reguliere (snelgroeiende) kuikens, omdat zij minder last hebben van neveneffecten (o.a. pijn en minder bewegelijkheid) van snelgroei.
Globale aanpak vraagstelling: Drie kuikenlijnen worden ingezet om de verschillen in gedrag te bestuderen tijdens de groeiperiode van de vleeskuikens: één om het beeld weer te geven van de reguliere vleeskip, één om het beeld van een kuiken met vertraagde groei (die nu op de markt is) weer te geven en één om het beeld van een nog trager groeiend vleeskuiken weer te geven. Alle drie de groepen krijgen drie gedragstesten voorgelegd in de periode van 0 - 8 weken. De testen die gebruikt worden in dit onderzoek zijn de 'open field test' voor het meten van de activiteit, de 'Y-maze test' om inzicht te krijgen in het sociaal gedrag van de verschillende kippen en de 'holeboard test' om het werkgeheugen (korte termijn geheugen) te beoordelen. Tijdens deze testen wordt er gekeken naar de inzet en snelheid waarmee de kip de testen aflegt. Om te beoordelen of de mate van activiteit te maken heeft met het gewicht in de opgroeiperiode worden de kippen vanaf dag één minstens drie keer per week gewogen. In deze studie vergelijken we het gedrag van dieren, dit kan enkel worden gedaan met intacte dieren. Het doel van de studie is om welzijn onder vleeskuikens te verbeteren en het begrip hiervan te vergroten daarom is het essentieel het onderzoek onder vleeskuikens uit te voeren.

Vergadering 8 mei 2013

Titel studie: The effect of acute uncontrollable stress on female sexual interest and functioning: pilot 2

DEC nummer: 2013.I.05.050

Het effect van een acute psychologische stressor op seksueel gedrag in vrouwtjes ratten

Achtergrond: Steeds meer studies laten zien dat seksuele disfunctie vaak voorkomt bij vrouwen en dat dit een negatief effect heeft op de kwaliteit van leven van deze vrouwen. Psychologische stress, bv. geïnduceerd door een negatief zelfbeeld of sociale stressors, hebben een negatief effect op het seksueel functioneren en de vruchtbaarheid van vrouwen. Acute stress lijkt via het stress systeem in het brein invloed uit te oefenen op de neurobiologische systemen die het seksueel functioneren van vrouwen reguleren. Hoe stress precies leidt tot verminderd seksueel functioneren is echter nog onbekend. Deze studie is een vervolg op eerdere studie, waarbij een milde stress procedure is opgezet die het seksueel functioneren van vrouwtjes ratten vermindert. Het is de bedoeling hiermee de neurobiologische mechanismen die ten grondslag liggen aan stress-geïnduceerde inhibitie van seksueel functioneren te onderzoeken. Daarnaast zou deze milde stress procedure in de toekomst ook kunnen gaan dienen als een valide diermodel voor vrouwelijke seksuele dysfunctie. Vrouwtjesratten hebben hormonen (estradiol en progesteron) nodig voordat ze seksueel gedrag gaan vertonen. Omdat er een minimale dosering van progesteron is waarbij ze dit gedrag vertonen, maar er ook een maximale dosering is waarop er nog een effect van stress is, zal binnen deze pilot ook gekeken worden naar de invloed van verschillende progesteron niveaus op het effect van de stress procedure.
Doel/hypothese: Het doel van deze tweede pilot studie is het toetsen van een aangepaste milde acute stress procedure die seksuele interesse en functioneren in vrouwtjes ratten vermindert, door middel van een milde voetschok procedure die gelijk is aan de milde voetschok procedure die in andere gedragstesten tot acute milde stress leidt. Hiernaast zal de invloed van het progesteronniveau op deze stress procedure bestudeerd worden.
Globale aanpak vraagstelling: Voor dit experiment worden twee experimentele groepen vrouwtjes ratten met elkaar vergeleken: één niet-stress controle groep en één groep die blootgesteld wordt aan milde stress (veroorzaakt door milde voetschokjes). Direct na deze milde stress procedure wordt het seksueel functioneren van deze vrouwtjes vergeleken in de paced mating test, een test waarin het vrouwtje zelf de mate van seksuele interactie met een mannetjes rat kan bepalen. Het effect van deze stress procedure op paced mating wordt bestudeerd bij drie verschillende doseringen progesteron om zo de optimale dosering progesteron vast te stellen. Om na de paced mating test te kijken of de effecten van stress ook enkel op seksuele interesse te zien zijn, wordt er een seksuele motivatie test gedaan. Tot slot wordt er een open veld test gedaan. Wanneer er geen effect van stress op het seksueel functioneren gevonden wordt, kan met deze test gecontroleerd worden of de procedure op

zich wel stressvol is. Binnen deze studie wordt het effect van stress op seksueel gedrag bestudeerd. Dit kan alleen bestudeerd worden in levende dieren die stabiel seksueel gedrag vertonen wat gekwantificeerd kan worden. De rat is wat deze punten betreft het meest geschikte dier om dit in te onderzoeken.

Titel studie: De effecten van speldeprivatie op alcoholverslaving

DEC nummer: 2013.I.05.051

De rol van sociale ontwikkeling in alcoholverslaving
Achtergrond: Sociaal gedrag tijdens het opgroeien, met name in de vorm van sociaal spel, is van groot belang voor de sociale en cognitieve ontwikkeling van mens en dier. Uit dierexperimentele studies is gebleken dat sociale isolatie van ratten tijdens de adolescentie, waardoor de dieren de mogelijkheid om te spelen wordt onthouden, leidt tot langdurige gedragsafwijkingen. Klinisch onderzoek heeft tevens aangetoond dat afwijkend sociaal gedrag, in de vorm van antisociale persoonlijkheidsstoornissen, een risicofactor vormen voor drugsverslaving.
Doel/hypothese: Opheldering geven van veranderingen in hersenen en gedrag die ten grondslag liggen aan de relatie tussen een verstoorde sociale ontwikkeling en verslaving.
Globale aanpak vraagstelling: De dieren (ratten) worden tijdens het opgroeien voor drie weken sociaal geïsoleerd. Vervolgens worden de dieren sociaal geherhuisvest en groeien op tot volwassen leeftijd alvorens gestart wordt met de gedragstesten. Tijdens de gedragstesten krijgen de dieren de mogelijkheid om alcohol te drinken. Verschillende aspecten van alcoholverslaving zullen onderzocht worden, zoals hoe snel de dieren beginnen met drinken, hoe belonend ze de alcohol vinden, hoeveel moeite de dieren bereid zijn te doen voor alcohol en de gevoeligheid voor terugvalgedrag na abstinentie (onthouding van verslavende middelen). Daarnaast wordt met behulp van farmaca bepaald wat de neurobiologische mechanismen zijn die het effect van speldeprivatie op alcoholconsumptie kunnen verklaren.

Titel studie: Characterization of expression and activity of Lgr4, Lgr5 and Lgr6 receptor proteins in mouse cochlea during development

DEC nummer: 2013.I.05.052

Karakterisering van de expressie en activiteit van receptoreiwitten Lgr4, Lgr5 en Lgr6 in de cochlea van de muis
Achtergrond: Gehoorverlies is de meest voorkomende zintuigstoornis met een prevalentie van ongeveer 1 per 1000 geboortes. Daarnaast komt verworven gehoorverlies veel voor, vooral bij ouderen. Gehoorverlies bij of vroeg na de geboorte leidt tot problemen bij het leren van spraak en taal. Verworven gehoorverlies kan tot sociale isolatie leiden. Een beargumenteerde schatting gaat uit van wereldwijd op dit moment 560 miljoen mensen met een gehoorverlies van meer dan 25 dB. Dergelijke schattingen voor Nederland gaan uit van 3% van de bevolking boven de 12 jaar en 25% van de mensen boven de 65 jaar. Uiteraard horen hier hoge kosten bij, zowel door het wegvallen van arbeidsren-

dement als door zorgkosten. Perceptief gehoorverlies ontstaat door degeneratie van de sensorineurale structuren in het binnenoor inclusief de haarcellen. Dit type gehoorverlies kan veroorzaakt worden door genetische afwijkingen, overstimulatie, ototoxische stoffen, infecties en veroudering. In zoogdieren, in tegenstelling tot veel lagere dieren, is regeneratie van het zintuigepitheel nog niet mogelijk. Tegenwoordig kan perceptief gehoorverlies behandeld worden met zogenaamde cochleaire implantaten, ook wel binnenoorprotheses genoemd, maar technische beperkingen maken dat dit maar een zeer incomplete oplossing is. Een mogelijk betere oplossing is het induceren van regeneratie van het zintuigepitheel en de geassocieerde neurale structuren en dat is dan ook de achtergrond van deze studie. Het precieze doel van de studie is de karakterisering van aanwezigheid en activiteit van LGR receptoren in de cochlea (Engels: Leucine Rich repeat G protein coupled Receptors) van muizen. Deze eiwitten vormen een familie die als markeerder geldt voor stamcellen in maag, darm en haarzakjes. LGR5 positieve cellen kunnen zich ontwikkelen tot haarcellen in vitro. Er zijn nog twee andere varianten van het eiwit, LGR4 en LGR6 en die zijn nog helemaal niet gekarakteriseerd in het binnenoor. Dit project zal ons helpen aan extra kennis over de ontwikkeling en regeneratie van het binnenoor. Een lange termijn doel is uiteraard de regeneratie van het zintuigepitheel, eerst in doof gemaakte muizen, later in mensen. Dit zou een enorme stap voorwaarts zijn in het verbeteren van de kwaliteit van leven van de ernstig slechthorenden, hun familie en de maatschappij in het algemeen.
Doel/hypothese: In een eerdere studie is aangetoond dat alle drie de Lgr receptoren in het binnenoor van de muis tot expressie worden gebracht. Het doel van deze studie is daarom om de rol van deze stamcel markers gedurende de ontwikkeling van het binnenoor verder te onderzoeken.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie wordt de aanwezigheid en de functie van drie stamcelmarkeerders (Lgr4, Lgr5 en Lgr6) onderzocht gedurende de ontwikkeling van het oor. Omdat ontwikkelingsprocessen veelal ook van toepassing zijn op regeneratie zal deze studie kennis verschaffen over mechanismen die belangrijk zijn bij het herstellen van het gehoor bij patiënten met gehoorverlies. Muizen zullen worden gebruikt om cochleaire monsters te verkrijgen van verschillende stadia in de ontwikkeling. Deze monsters zullen geanalyseerd worden met moleculaire technieken, waarmee de lokalisatie en expressie van de Lgr-receptoren in de cochlea tijdens de ontwikkeling bepaald kunnen worden. Bij de lokalisatiestudie zal gebruik gemaakt worden van het Lgr5eGFP-muismodel, dat gekenmerkt wordt door de aanwezigheid van Green Fluorescent Protein, dat direct bind aan het eiwit waarin we geïnteresseerd zijn, en gebruikt kan worden om cellen met dit eiwit te detecteren. Er is gekozen voor het gebruik van muizen omdat deze dieren het meest gebruikt worden voor stamcelonderzoek. Hierdoor zullen behaalde resultaten direct vergeleken kunnen worden met studies van andere onderzoeksgroepen. Tot slot is het binnenoor van de muis erg verwant aan het humane binnenoor, wat vertaling van de resultaten naar patiënten met gehoorverlies vereenvoudigd.

Titel studie: Emotie en besluitvorming van varkens in een arme en verrijkte omgeving

DEC nummer: 2013.I.05.053

Besluitvorming van varkens gehuisvest in een arme dan wel een verrijkte omgeving

Achtergrond: Besluitvorming is de manier waarop we bij verschillende opties kiezen, terwijl beoordelen betrekking heeft op de raming van de kansen van consequenties. Vanuit de humane psychologie is bekend dat beiden door persoonlijkheid en emoties kunnen worden beïnvloed. Mensen met een slechte stemming neigen ertoe, risicovollere beslissingen te nemen en zullen de situatie pessimistischer beoordelen. Wanneer iemand slechte zin heeft dan zal diegene een glas als half leeg zien, terwijl je het als half vol ziet wanneer je goede zin hebt. Bij dieren heeft welzijn niet alleen maar betrekking op de fysieke gezondheid, maar ook op de mentale gezondheid. Het is belangrijk om te weten hoe zij zich voelen. Het is echter erg moeilijk om bij dieren emoties direct te meten, omdat je niet kan 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 in een verrijkte of in een arme omgeving gehuisvest worden.

Doel/hypothese: Verwacht wordt dat de varkens die in een arme omgeving gehuisvest worden meer problemen hebben met besluitvorming dan varkens gehuisvest in een verrijkte omgeving.

Globale aanpak vraagstelling: Dit onderzoek probeert een manier te vinden om emoties bij dieren te bestuderen, omdat dit een belangrijke bijdrage kan leveren aan het bepalen van hun welzijn. Het is belangrijk om te kunnen meten of de dieren zich goed of slecht voelen. Verwacht wordt dat dit mogelijk is door naar de manier van besluitvorming en beoordeling te kijken. Varkens gehuisvest in een arme omgeving, waarvan men verwacht dat ze problemen hebben met besluitvorming, worden vergeleken met varkens gehuisvest in een verrijkte omgeving. Het is onmogelijk, deze studie uit te voeren zonder gebruik te maken van dieren. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat de dieren graag in het trainingsprogramma participeren, omdat ze in de tests beloningen kunnen verdienen.

Vergadering 5 juni 2013

Titel studie: Interne trainingen MRI en experimentele diermodellen voor hersenaandoeningen

DEC nummer: 2013.I.06.054

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 deze trainingsaanvraag 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 de afdeling.

Opzet 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 worden opgesteld om de leercurve bij te houden en de proefdierdeskundige zal bij de training betrokken worden. Alle handelingen, het welzijn van het dier (neurologische score) en het humane eindpunt worden genoteerd. Tevens is er de mogelijkheid om voor vaste medewerkers nieuwe technieken te leren en bestaande technieken vaardig te blijven. Opzet van de training:

1. ingreep op dier onder narcose/pijnstilling en het dier niet laten bijkomen;
2. zodra de ingreep beheerst wordt, dier laten bijkomen om postoperatief herstel en succes van de ingreep te beoordelen.

Titel studie: De rol van de glucocorticoid receptor in het metaplastisch effect van corticosteron in de amygdala

DEC nummer: 2013.I.06.055

De rol van de glucocorticoid receptor in het metaplastisch effect van corticosteron in de amygdala

Achtergrond: Stress gerelateerde aandoeningen zijn een belangrijke risicofactor voor psychiatrische aandoeningen als depressie, angststoornissen en posttraumatische stress syndroom. Wij zijn geïnteresseerd in de vraag hoe stressvolle situaties en de daarmee gepaard gaande hormonale veranderingen de communicatie tussen hersencellen beïnvloeden. We verwachten met ons onderzoek op termijn een bijdrage te leveren aan de volksgezondheid.

Doel/hypothese: Het doel is om meer inzicht krijgen in de mechanismen die betrokken zijn bij het verwerken van leer- en geheugenprocessen bij emotioneel stressvolle gebeurtenissen. Deze processen spelen zich af in een specifiek hersengebied (de amygdala).

Globale aanpak vraagstelling: We willen met deze studie de invloed van het stresshormoon corticosteron op de signaaloverdracht meten in een gebied in de hersenen van de muis, waarin de receptor voor het stresshormoon (GR) is verwijderd in de glutamaat-neuronen of de GABA-neuronen. Het hersengebied waarin we geïnteresseerd zijn is de basolaterale amygdala, een gebied dat betrokken is bij de verwerking van emotionele gebeurtenissen. De GR is met name actief wanneer corticosteron voor een tweede keer aan een hersenplakje wordt toegediend. Het zorgt dan voor een afname van de signaaloverdracht. Waarschijnlijk zal dit niet gebeuren in muizen waarin de GR in de glutamaat neuronen is verwijderd. Om een beeld te krijgen van de rol die de receptor (GR) speelt in geheugenprocessen, wordt ook een aan het geheugen gerelateerde verandering in de signaaloverdracht in de basolaterale amygdala gemeten. Deze studie kan belangrijke informatie opleveren voor eventuele behandelingsmethoden van stress gerelateerde aandoeningen. De experimenten worden uitgevoerd met een elektrofysiologische techniek in vers gesneden plakjes hersenweefsel (van muizen). Het meten van de activiteit vereist het gebruik van materiaal met normaal ontwikkelde verbindingen in de hersenen. Dit is een zeer complex systeem dat niet met cellijnen nagebootst kan worden. De signaaloverdracht van hersencellen verandert gedurende embryonale ontwikkeling en daardoor is het gebruik van gekweekte (primaire) cellen en cellijnen niet mogelijk. Verder zijn er zijn geen goede vervangende methoden aanwezig.

Titel studie: Effects of a vaccination for Newcastle Disease on systemic tryptophan levels and open field behavior

DEC nummer: 2013.I.06.056

Effecten van een vaccin tegen Newcastle Disease op tryptofaan en gedrag en leghennen

Achtergrond: Serotonine is een neurotransmitter, een stof dat werkzaam is in de hersenen. Maar, deze stof speelt ook een belangrijke rol buiten de hersenen. Het serotonerge systeem is van belang voor een groot aantal functies, waaronder gedrag, cognitie, maar ook voor immuunresponsen. In leghennen wordt gedacht dat een disbalans in het serotinerge systeem, het risico op verenpikken vergroot. Leghennen krijgen standaard een aantal vaccinaties om zich te beschermen tegen ziekten, waaronder Newcastle Disease. In een vorig experiment zijn echter aanwijzingen gevonden dat het serotinerge systeem verandert na inenting. In dit onderzoek zal nagegaan worden of na inenting veranderingen waarneembaar zijn in tryptofaan. Tryptofaan is een van de essentiële bouwstoffen voor serotonine.

Doel/hypothese: Doel van dit experiment is het bestuderen van invloeden van een inenting (tegen Newcastle Disease) op het serotinerge systeem. Op basis van eerdere experimenten wordt verwacht dat de dat tryptofaangehaltes in de weken na inenting in het bloed zullen dalen.

Globale aanpak vraagstelling: Leghenkuikens zullen ingeënt worden op drie weken leeftijd; een controlegroep krijgt geen enting. Voorafgaand aan de inenting en op gezette tijden in de weken na de inenting zullen

bloedmonsters genomen worden om tryptofaangehaltes te bepalen, en de vergelijking gemaakt worden tussen geënte dieren en niet-geënte controle dieren. Ook zal er globaal naar het gedrag van de dieren gekeken worden m.b.v. een open veld test. Omdat het in dit onderzoek om gedrag en interacties tussen het immuunsysteem en het serotinerge systeem gaat, kan het helaas uitsluitend met levende dieren uitgevoerd worden.



De hennen zijn in kleine groepen gehuisvest in een ruim grondhok. Kort voor de bloedafname wordt het dier uit de groep gehaald. De poten worden voorzichtig tussen de vingers geklemd, waarna het dier in rugligging wordt gebracht. Hierbij wordt het lichaam van het dier goed ondersteund door de hand van de helper. Hierdoor blijft de kip rustig en zullen er nauwelijks onverwachtse bewegingen plaatsvinden die de bloedafname kunnen verstoren. Indien nodig worden enkele veertjes verwijderd wanneer deze het zicht op de vleugelvene bij het ellebooggewricht belemmeren.




3


4


5


⑥


⑦


⑧

Bij het aanprikken van het bloedvat wordt de zuiger van de spuit licht teruggetrokken. Zodra er bloed in de conus van de naald verschijnt wordt de zuiger verder aangetrokken totdat een kleine hoeveelheid bloed is verzameld voor het bepalen van het gehalte aan tryptofaan en aantallen antilichamen. Vervolgens wordt de naald voorzichtig teruggetrokken en wordt de aanprikplaats kortdurend dichtgedrukt. Bij kippen treedt een zeer vlotte bloedstolling op en sluit het kleine wondje op de aanprikplaats zeer snel. Hierdoor komt nabloeden nauwelijks voor of is het erg beperkt en van korte duur. De kip kan dus direct na de bloedafname weer terug in de groep worden geplaatst.







Vergadering 26 juni 2013

Titel studie: Functional and structural connectivity patterns in the brain after early life stress

DEC nummer: 2013.I.07.057

De invloed van moederzorg op de structurele en functionele connectiviteit van het brein

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. Eerder onderzoek heeft ook al aangetoond dat zowel de structuur als de functie van verschillende hersengebieden kan veranderen ten gevolge van dergelijke stress, maar was beperkt tot de invloeden van stress op individuele gebieden. Het is nog volledig onbekend hoe verstoring in de moederzorg de communicatie tussen deze gebieden beïnvloedt. Goed functioneren van het brein is juist afhankelijk van de samenwerking van verschillende hersengebieden en er zijn aanwijzingen dat patiënten met een stress-gerelateerde stoornis (bv. depressie) juist hierin gebrekkig zijn.

Doel/hypothese: Het karakteriseren van veranderingen in connectiviteit op het niveau van de witte stof (structurele verbindingen) en grijze stof (functionele verbindingen), als gevolg van het scheiden van moeder en pups, met behulp van MRI. Verder wordt bestudeerd of deze veranderingen kunnen worden voorkomen door dieren te behandelen met een stresshormoon blokker (RU486).

Globale aanpak vraagstelling: De dieren zullen op drie 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 structurele en functionele connectiviteit van de hersenen met behulp van MRI bekeken. Op dag 25 en dag 90 worden de dieren onder verdoving gescand in de MRI scanner om hun functionele hersenactiviteit te meten. Vervolgens krijgen ze een overdosis verdoving waarna het brein gefixeerd wordt om een structurele scan gedurende de nacht te maken. Deze handelingen zijn in mensen niet op deze manier mogelijk. Deze nieuwe inzichten kunnen op termijn mogelijk therapeutische toepassingen hebben. Gezien het maatschappelijke en wetenschappelijke belang van deze experimenten vinden we de experimenten ethisch aanvaardbaar.

Titel studie: Studie naar de verschillen in leerproces en -vermogen, van varkens die geïsoleerd en niet-geïsoleerd zijn geweest

DEC nummer: 2013.I.07.058

Studie naar de effecten van het isoleren van varkens (door hen een nacht te isoleren van de soortgenoten) 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 dankzij bijvoorbeeld stress, is het voor hen heel moeilijk zich in deze stal met voermachines terecht te kunnen vinden. Zij zullen bijvoorbeeld voertijden missen en dus honger lijden. Verder betekent het niet terecht vinden in zijn omgeving stress voor het varken, dat het welzijn van het varken negatief beïnvloedt.

Doel/hypothese: Doel van het onderzoek is het uitbreiden van de kennis van cognitie bij varkens, door specifiek te kijken naar isolatie van de individuen. De hypothese die hierbij wordt geformuleerd is dat varkens die voor een nacht zijn geïsoleerd van de soortgenoten, de holeboard test minder goed zullen volbrengen dan dieren die niet voor een nacht zijn geïsoleerd van hun soortgenoten. Minder goed betekent in dit geval dat deze varkens de plekken waar het voer is verstopt in de holeboard test niet zo snel kunnen vinden en meer fouten tijdens het zoeken maken dan varkens die niet een nacht geïsoleerd zijn geweest.

Globale aanpak vraagstelling: Een groep varkens (allen vrouwelijke individuen) zal na het spenen (wanneer ze niet meer afhankelijk zijn van de zeug) in een verrijkte omgeving opgroeien. Dit houdt in dat ze stro als bodemmateriaal hebben om in te wroeten en steeds wisselend speelgoed tot hun beschikking hebben (zoals takken, jute zakken en ander speciaal varkensspeelgoed). De groep wordt (na wennen aan de test) getest via de cognitieve holeboard test, waarbij de varkens naar beloningen (in de vorm van voedsel) moeten zoeken die verstopt zijn op verschillende plekken in de testruimte. Deze test is voor de varkens een uitdaging op het gebied van hun leervermogen en geheugen. Als alle varkens de test goed kunnen volbrengen, wordt voor het begin van elke nieuwe test een varken een nacht geïsoleerd van zijn soortgenoten. Om het verschil in mate van stress te kunnen testen, wordt met een wattenstaafje wat speeksel afgenomen van de geïsoleerde en niet-geïsoleerde varkens, vóór en tijdens het uitvoeren van de test. De dieren kauwen uit zichzelf op het staafje en worden hiertoe niet gedwongen. Het cortisol gehalte uit het speeksel wordt vervolgens gemeten om de mate van stress te kunnen aantonen. De varkens worden verspreid over een aantal weken meerdere malen getest om een goed beeld te krijgen van hun cognitieve vermogen.

Titel studie: Testing the susceptibility of Cntnap2 deficient mice in activity-based anorexia

DEC nummer: 2013.I.07.059

Bestudering van de bijdrage van het Cntnap2 gen in de gevoeligheid voor hyperactief gedrag en lichaamsgewicht regulatie

Achtergrond: Anorexia Nervosa (AN) is een ernstige ziekte waar met name jonge vrouwen (in de leeftijd van 15-19 jaar) zijn aangedaan. De ziekte manifesteert zich door een sterke mate van voedselrestrictie. Dit leidt tot een sterk verlies in lichaamsgewicht en verhoogde activiteitsniveaus. De hyperactiviteit die ontstaat versneld het ziekteproces en bemoeilijkt de behandeling. In dit onderzoek willen we de neurobiologische mechanismen ontrafelen die ten grondslag liggen aan dit hyperactief gedrag.

Doel/hypothese: AN is een aandoening waarbij er een sterke mate van overerving een rol speelt. Daarom is het belangrijk om de bijdrage van genetische factoren bij de totstandkoming van deze AN eigenschappen te onderzoeken. Dit kunnen we doen door middel van muismodellen waarbij kandidaat genen systematisch worden bestudeerd in relatie tot hyperactief gedrag en lichaamsgewicht ontwikkeling.

Globale aanpak vraagstelling: In een diermodel voor AN wordt de bijdrage van het Cntnap2 gen getest in het ontstaan van versnelde lichaamsgewicht verlies en ontwikkeling van hypeactiviteit tijdens de periode van voedselrestrictie. Om de rol van dit kandidaat gen te bestuderen is een methode nodig om de gen functie in een gecontroleerde genetische en omgevingsachtergrond te testen op gedragsfenotypen. Dit kan het beste gedaan worden in een muismodel. De ontwikkeling van lichaamsgewicht wordt vergeleken in dieren waarbij het Cntnap2 gen niet tot expressie komt met dieren waarbij dit wel het geval is. Dit gebeurt door de ontwikkeling van hyperactief gedrag en lichaamsgewicht veranderingen te meten in wild type controle muizen en deze te vergelijken met muizen die het Cntnap2 gen missen. Deze vergelijking vindt plaats tijdens een periode van volledige voedsel aanwezigheid en tijdens een periode waarbij voedsel beschikbaar is tijdens een aantal uren van de dag.

Titel studie: Freely moving EEG measurement of social behaviors in Pcdh9 mutant mice

DEC nummer: 2013.I.07.060

EEG analyse van gestoorde sociale informatie verwerking in Pcdh9 mutante muizen

Achtergrond: In recente studies hebben we een uniek diermodel ontwikkeld door een gen te vinden dat direct betrokken lijkt bij het vermogen van muizen om onderscheid tussen bekende en onbekende soortgenoten te maken. In dit model mist de muis een of meerdere kopieën van het Pcdh9 gen, een gen dat bij mensen geassocieerd is met autisme. In verdere studies hebben we aannemelijk gemaakt dat mutaties van dit gen in muizen de ontwikkeling van een gedeelte van de hersenschors, de somatosensore cortex, verstoort. Dit gebied lijkt ook bij mensen een belangrijke rol bij gezichts- en emotieherkenning te vervullen, zoals is gebleken uit functio-

nele MRI studies. Recente technologische vooruitgang heeft het mogelijk gemaakt om bepaalde frequenties in hersenactiviteit via EEG te meten die direct gekoppeld zijn aan de verwerking van complexe zintuigelijke informatie. Door deze techniek nu toe te passen op de Pcdh9 muizen hopen we een unieke link te kunnen leggen tussen sociale informatieverwerking, een genetische afwijking en een specifiek defect in de hersenschors.
Doel/hypothese: Het doel van de studie is om verandering in neurale activiteit te koppelen aan verstoring van sociaal gedrag in dieren met een specifieke mutatie en hersendefect. De hypothese is dat verstoring van de ontwikkeling van de somatosensore cortex het vermogen tot sociaal onderscheid verstoord via een vermindering van specifieke neurale activiteit die met moderne EEG techniek kan worden gemeten.
Globale aanpak vraagstelling: De relevantie van dit onderzoek blijkt uit het feit dat het Pcdh9 gen 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 bovenstaand is beschreven. De opzet van het onderzoek betreft het meten van neurale activiteit middels EEG in Pcdh9 mutante en wildtype muizen. De relatie van deze neurale activiteit kan later vergeleken worden met humane EEG metingen en zo translationeel inzicht geven over hoe bepaalde genetische afwijkingen de hersenontwikkeling verstoren. De EEG meting zal plaatsvinden middels telemetrie, waarbij onder anesthesie een transmitter op de schedel van muizen zal worden aangebracht. Middels deze transmitter is het mogelijk om hoog-frequente EEG signalen op te vangen via een speciaal ontwikkelde responder. Het voordeel van deze aanpak is dat de dieren vrijelijk kunnen bewegen tijdens de EEG registratie en dat we het signaal kunnen koppelen aan de sociale interactie test, die gestoord is in Pcdh9 mutante muizen. Hiermee kan een directe koppeling gemaakt worden tussen het gedrag en neuronaal signaal en kijken welke frequentie gekoppeld is aan het sociale deficit in de Pcdh9 mutante muizen. Al met al hoopt deze studie belangrijke en specifieke mechanismen bloot te leggen achter sociale gedragsproblemen in psychiatrische ontwikkelingsstoornissen.

Titel studie: Isoleren van postnatale glia cellen ten behoeve van de kweek van humane neuronen

DEC nummer: 2013.I.07.061

Isoleren van glia cellen van muizenpups ten behoeve van de kweek van humane zenuwcellen
Achtergrond: Huidcellen van mensen kunnen worden gereprogrammeerd naar stamcellen met behulp van een specifiek virus. Vervolgens worden deze stamcellen gedifferentieerd naar zenuwcellen. Deze technieken maken het mogelijk om van huidcellen van patiënten waarbij het zenuwstelsel wordt aangetast door een ziekte, bijvoorbeeld Amyotrofe Laterale Sclerose (ALS), zenuwcellen te verkrijgen. Het onderzoek naar deze zenuwcellen kan nieuwe inzichten verschaffen in de moleculaire mechanismen die zijn aangetast door de betreffende ziekte en deze ziekte mogelijk bestrijden.

Doel/hypothese: Het doel van dit project is inzicht te verschaffen in de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan neurodegeneratieve ziekten.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie willen we kijken naar de moleculaire mechanismen die een rol spelen bij neurodegeneratieve ziekten. Om deze mechanismen te kunnen bestuderen zullen wij huidcellen van bijvoorbeeld ALS patiënten repogrammeren naar stamcellen en deze vervolgens differentiëren naar zenuwcellen. Om deze zenuwcellen in leven te houden moeten ze samen met glia cellen gekweekt worden. Glia cellen worden verkregen door de breintjes van jonge pasgeboren muizen van 1, 2 of 3 dagen oud te isoleren en hier individuele cellen van te maken. Deze glia cellen scheiden groeifactoren af die noodzakelijk zijn voor het in leven houden en de ontwikkeling van de zenuwcellen. Doordat nog niet bekend is welke groeifactoren deze glia cellen exact afgeven kunnen deze cellen nog niet worden vervangen door een ander systeem. Aangezien de glia cellen zich maar een beperkt aantal keer delen en vries- en dooi cycli niet overleven is het noodzakelijk om twee keer per maand een kleine hoeveelheid glia cellen te kweken. Door de zenuwcellen en de glia cellen samen te kweken blijven de zenuwcellen in leven en ontwikkelen deze zich, zodat de moleculaire mechanismen in de zenuwcellen bestudeerd kunnen worden.

Titel studie: The effect of maternal deprivation on decision making processes in female rat

DEC nummer: 2013.I.07.062

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. De Iowa-Gambling taak (IGT) meet het kiesproces van mensen door het simuleren van beslissingen omtrent beloningen, straffen en onvoorspelbare uitkomsten. Gezonde deelnemers leren hierbij om voor een lange termijn voordelige optie te kiezen die is geassocieerd met een directe middelgrote beloning, boven een lange termijn onvoordelige optie die is geassocieerd met een directe grote beloning. Er zijn verschillen tussen mannen en vrouwen op de IGT. In de beginfase, waarin men vaak ter exploratie alle opties probeert, zijn er geen verschillen. Maar in latere fases laten mannen een sterke toename zien in de keuzes voor de lange termijn voordelige optie. Ondanks dit feit is er nog maar weinig bekend over de sekse verschillen in keuzeprocessen. Om beter

te begrijpen welke mechanismen en hersengebieden een rol spelen bij dit keuzeproces zijn er diermodellen ontwikkeld voor deze gedragstaak. In deze diermodellen is het mogelijk om precieze controle over de omgevings en genetische factoren te hebben. In de vorige studie die met ratten is gedaan zijn interessante resultaten behaald wat betreft de effecten van negatieve vroege levenservaringen op cognitieve functionering. Nadat de dieren op jonge leeftijd in een negatieve levenservaring waren gebracht (door ze 24 uur bij de moeder weg te halen), zijn ze op latere leeftijd getest op de knaagdieren versie van de IGT. De ratten die bij de moeder weggehaald zijn geweest waren niet in staat deze taak te leren (en te discrimineren tussen lange termijn kleine beloningen versus zo nu en dan grote beloningen met ook veel straffen). De groep dieren die bij de moeder weggehaald waren, zijn daarna behandeld met de glucocorticoïd antagonist RU38486, waarna zij wel in staat waren de taak te leren. Dus is dit een potentieel medicijn in staat om de nadelige effecten van een negatieve vroege levenservaring tegen te gaan. De hersenen zijn een belangrijke doel van stresshormonen. Anti-glucorticoïden (in combinatie met antidepressiva) zorgen voor een betere behandeling van psychotische depressie. Dus in het experiment met mannelijke ratten werd een sterk effect gezien van dit medicijn bij het verbeteren van de cognitieve functionering van dieren met een negatieve vroege levenservaring.
Doel/hypothese: In dit project bestuderen we of de effecten van het scheiden van moeder en pups kunnen worden voorkomen door dieren te behandelen met een stresshormoon blokker, genaamd RU486. De meeste studies met IGT in dieren zijn gedaan in mannen, omdat de hormonale cyclus van vrouwen een effect kan hebben op het beoordelen van beloningen, waardoor er potentiaal groepsverschillen in de taak kunnen optreden. In deze studie zullen dezelfde experimenten worden uitgevoerd met vrouwelijke ratten.
Globale aanpak vraagstelling: De dieren zullen op drie 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 toepassingen hebben.

Vergadering 14 augustus 2013

Titel studie: Underpinnings of Functional and Structural Plasticity after experimental stroke; Brain reorganization from molecular to network level

DEC nummer: 2013.I.08.063

Functionele en structurele plasticiteit na een beroerte: Hersenreorganisatie van moleculair tot netwerk niveau
Achtergrond: Hersenberoertes zijn één van de voornaamste oorzaken van mortaliteit, morbiditeit en invaliditeit in de moderne samenleving. Na een beroerte treedt meestal een verlamming op, die vaak na verloop van tijd weer gedeeltelijk herstelt. Recente imaging (o.a. MRI) studies hebben aangetoond dat dit gepaard gaat met veranderingen in intacte hersengebieden, mogelijkerwijs om het verlies van functies in de beschadigde gebieden op te vangen. Hoe dit precies werkt is grotendeels onbekend. Daarnaast is het onduidelijk of en hoe dit versterkt kan worden door revalidatietherapie.
Doel/hypothese: Met deze studies willen we vaststellen welke veranderingen er in de onbeschadigde hersengebieden optreden na een beroerte, waarbij we specifiek kijken naar de relatie tussen grootschalige aanpassingen in hersenconnecties en veranderingen op cel- en moleculniveau. Daarnaast willen we bestuderen in hoeverre dergelijke processen beïnvloed kunnen worden door herstel bevorderende therapie op basis van stimulerende omgevingsprikkels.
Globale aanpak vraagstelling: Veranderingen in de functie en structuur van de hersenen zullen we met MRI technieken meten in ratten die herstellen van een beroerte. Tevens zullen we met behulp van gedragstesten bestuderen in welke mate de hersenfunctie na beroerte hersteld is. Na de MRI scans zullen de dieren worden geëuthanaseerd om cellulaire en moleculaire veranderingen in de hersenen met geavanceerde microscopische en biofysische technieken te bestuderen. Om dergelijk complexe hersen(re)organisatie nauwkeurig in kaart te brengen, is het gebruik van goed beschreven en gecontroleerde proefdiermodellen noodzakelijk. Dit maakt het mogelijk om hersenen, in levende vorm en als uitgenomen weefsel, in detail te bestuderen. Dit leidt tot verbeterd inzicht in herstelprocessen en uiteindelijk tot bevordering van therapieën in de mens.

Titel studie: Development of functional and structural brain connectivity in the fronto-striatal circuit by means of multiparametric MRI in quinpirole-induced OCD

DEC nummer: 2013.I.08.064

De ontwikkeling van functionele en structurele connectiviteit in het fronto-striatale netwerk in de hersenen in een model (rat) van obsessief-compulsieve stoornis (OCD)
Achtergrond: Compulsiviteit, ofwel dwangmatig gedrag, is onderdeel van verschillende aandoeningen zoals ADHD, autisme, obsessief- compulsieve stoornis (OCD) en verschillende vormen van verslavingen. Deze aandoeningen en verslavingen vinden hun oorsprong

in een verstoring van een netwerk in de hersenen, het zogenaamde fronto-striatale netwerk.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is het in beeld brengen en karakteriseren van de ontwikkeling van dit fronto-striatale netwerk in ratten, om meer inzicht te krijgen in de mechanismen van compulsief gedrag en zodoende een vertaalslag te kunnen maken naar een verbeterde behandeling van compulsieve aandoeningen in de mens.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek kijken we naar de ontwikkeling van hersen-netwerken in de rat die compulsief gedrag vertoont. We gebruiken in dit onderzoek de rat als diermodel, vanwege de mogelijkheid de hersenontwikkeling te volgen met geavanceerde MRI technieken in relatief korte tijd.

Titel studie: Het verhelderen van de cellulaire mechanismen achter intranasale MSC toediening bij neonatale hersenschade

DEC nummer: 2013.I.08.065

Het verhelderen van de cellulaire mechanismen achter intranasale MSC toediening bij neonatale hersenschade
Achtergrond: Hypoxisch-ischemische hersenschade (HI) is hersenschade die ontstaat door een zuurstofgebrek voor, tijdens of direct na de geboorte van een kind. HI is een van de meest voorkomende oorzaken van sterfte of blijvende neurologische aandoeningen bij pasgeboren kinderen. De incidentie is 3-9 per 1000 levend geboren baby's. De mechanismen betrokken bij HI hersenschade zijn slechts gedeeltelijk bekend en de therapeutische mogelijkheden zijn erg beperkt. Het is gebleken dat stamcel behandeling de hersenschade vermindert na HI. In deze studie willen we bekijken hoe deze stamcellen werken en of ze in de hersenen zenuw-voorlopercellen aanzetten tot delen en daarmee reparatie. Door dit te weten kan beter bepaald worden of stamcel behandeling een goede optie zou zijn in andere hersenschade aandoeningen. Dit is zeer relevant voor de kliniek.
Doel/hypothese: Bepalen of lichaamseigen zenuw-voorlopercellen door mesenchymale stamcel behandeling worden aangezet om te delen, te migreren naar het gebied van hersenschade en nieuwe zenuwcellen te vormen.
Globale aanpak vraagstelling: Pasgeboren muizen worden behandeld met stamcellen of een vehicle, tien dagen na het induceren van HI hersenschade. Vervolgens wordt op verschillende tijdstippen bekeken of de motoriek verbeterd is, waar de lichaamseigen zenuw-voorloper cellen zich bevinden (migratie), hoeveel het er zijn (proliferatie) en welke cellen het geworden zijn (differentiatie) vergeleken met de dieren die geen stamcellen hebben gekregen.

Titel studie: Determination of the antidepressant effects of novel compounds in the olfactory bulbectomized rats

DEC nummer: 2013.I.08.066

Effecten van potentiele antidepressiva op OBX ratten
Achtergrond: Depressie is een zeer ernstige psychiatrische ziekte. De huidige generatie antidepressiva is helaas niet zo effectief als we wel zouden willen: bij ongeveer 30% van de patiënten werken deze geneesmiddelen niet

of nauwelijks; het duurt lang voordat een effect te meten is; patiënt moet vaak jaren een antidepressivum blijven gebruiken; antidepressiva hebben bijwerkingen. In deze contractstudie gaan we twee door een farmaceutisch bedrijf ontwikkelde nieuwe antidepressiva testen in een diermodel voor depressie.
Doel/hypothese: Vaststellen of twee door een farmaceutisch bedrijf ontwikkelde potentiele antidepressiva werkzaam zijn in de OBX rat.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie worden twee verschillende stoffen getest op OBX ratten en controle ratten. OBX is de afkorting voor olfactory bulbectomy, het verwijderen van de olfactory bulbs (OB). De OBs worden gebruikt voor ruiken. OBX leidt tot hyperactiviteit. Langdurige toediening van antidepressiva normaliseert deze hyperactiviteit. OBX en controle ratten zullen twee weken lang dagelijks worden ingespoten met de te testen stoffen. 30 Minuten na de eerste toediening en na 7 en 14 dagen wordt de activiteit van de behandelde dieren gemeten in het open veld. De complexiteit van de hersenen zorgt er voor dat deze studie niet met behulp van geïsoleerde cellen uitgevoerd kan worden. Gedrag is het resultaat van interacties tussen vele verschillende hersengebieden met waarschijnlijk miljoenen cellen. Pyscho-actieve stoffen (en dus ook antidepressiva) beïnvloeden deze interacties.

Titel studie: Biased 5-HT1A receptor agonists for the treatment of male sexual dysfunctions

DEC nummer: 2013.I.08.067

Pre- en postsynaptische-specifieke 5-HT1A receptor agonisten voor de behandeling van seksuele stoornissen
Achtergrond: Antidepressiva veroorzaken veranderingen in de hersenen die er voor zorgen dat mensen minder zin hebben in seks en veel moeilijker een orgasme kunnen krijgen. In deze studie gaan we in mannelijke ratten onderzoeken of bepaalde subpopulaties van de 5-HT1A receptor (een receptor voor serotonine) een rol spelen in seks. Deze receptoren liggen zowel op de cellen die serotonine maken (deze cellen noemen we presynaptisch) als op de cellen die het serotonine ontvangen (deze noemen we postsynaptisch). Uit experimenten blijkt dat antidepressiva 5HT1A receptoren minder gevoelig maken voor serotonine. In deze studie willen we onderzoeken of activatie van de presynaptische of postsynaptische 5-HT1A receptor seks in ratten zal stimuleren. Dit onderzoek zal worden uitgevoerd in onbehandelde ratten en in ratten die chronisch zijn behandeld met een antidepressivum. Dit onderzoek is mogelijk omdat we hele unieke stoffen hebben die, of wel presynaptische, of wel postsynaptische 5-HT1a receptoren stimuleren (een stof die een receptor activeert noemen we een agonist).
Doel/hypothese: 1) Onderzoek naar de rol van pre- en postsynaptische 5-HT1A receptoren in de regulatie van seks. 2) Vaststellen of seksuele bijwerkingen door antidepressiva kunnen worden opgeheven door activatie van de pre- en/of postsynaptische 5-HT1A receptoren.

Globale aanpak vraagstelling: Allereerst zullen de acute effecten van de verschillende 5-Ht1A agonisten op het seksuele gedrag van ratten worden onderzocht. Van de mannelijke ratten heeft ongeveer 30% van de dieren geen zin in seks of kunnen in ieder niet ejaculeren. We gaan de agonisten ook op deze dieren testen. In het daarop volgende experiment zullen ratten eerst worden voorbehandeld met een antidepressivum en vervolgens zal worden getest of de 5-HT1A agonisten in staat zijn om de seksuele bijwerkingen hiervan op te heffen. Bij de regulatie van seks spelen vele hersengebieden met miljoenen cellen een rol. Veranderingen in gedrag, dus ook in seksueel gedrag, ontstaan door veranderingen in interacties tussen deze hersengebieden en de zenuwcellen daarin. Het is onmogelijk om een dergelijk complex systeem buiten een (proef)dier na te bouwen.

Titel studie: Research into sexual side effects of Viibryd (vilazodone), a compound with SSRI and 5HT1A receptor partial agonistic activity: switch study and microdialysis

DEC nummer: 2013.I.08.068

Een vervolg studie in ratten naar de seksuele effecten van vilazodone

Achtergrond: Vilazodone is een nieuw antidepressivum dat in de VS al 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 proseksueel. In een vorige studie hebben we laten zien dat de anti- en proseksuele werkingen van vilazodone elkaar in evenwicht houden.
Doel/hypothese: In deze studie gaan we onderzoeken of de seksuele bijwerkingen van paroxetine herstellen als dit antidepressivum wordt vervangen door vilazodone. Ook gaan we onderzoeken of vilazodone en paroxetine effecten hebben op veranderingen in de neurotransmitters serotonine en dopamine tijdens seks. Deze studie wordt gedaan om inzicht te krijgen in waarom vilazodone veel minder seksuele bijwerkingen heeft dan paroxetine. Uiteindelijk zullen ook nog de effecten van vilazodone op vrouwtjes ratten onderzocht worden.
Globale aanpak vraagstelling: De ratten zullen eerst twee weken lang behandeld worden met paroxetine of vilazodone en vervolgens zal er gewisseld worden. Dus de paroxetine groep krijgt vilazodone en andersom. In het daarop volgende experiment zullen de effecten van chronische toediening van vilazodone op 'langzame' ratten zullen worden onderzocht. Ongeveer 1/3 van de ratten die gebruikt worden voor het onderzoek krijgt hooguit één ejaculatie in 30 minuten. De vraag is nu of vilazodone dit aantal opkrikt. In het derde experiment wordt tijdens de seks de niveaus van de neurotransmitters serotonine en dopamine bepaald in de hersenen. Er wordt gekeken of er een verschil is tussen paroxetine en vilazodone behandelde dieren. In het laatste experiment worden vrouwtjes ratten gedurende één week dagelijks ingespoten met vilazodone en vervolgens zal hun seksuele activiteit worden gemeten. Seksueel gedrag kan niet in geïsoleerde cellen in kweek worden onderzocht.

Vergadering 11 september 2013

Titel studie: Karakterisatie van conditionele C9ORF72 knockout muizen

DEC nummer: 2013.I.09.069

Het achterhalen van de normale functie en het gevolg van het verlies van een eiwit wat de meeste gevallen van ALS veroorzaakt

Achtergrond: Amyotrofe Laterale Sclerose (ALS) is een ernstige aandoening waarbij de zenuwen die de spieren aansturen afsterven. Hierdoor ontstaan klachten als zwakte in de armen en benen en moeite met slikken en spreken. ALS patiënten overlijden gemiddeld binnen 3 jaar nadat de eerste klachten zijn ontstaan door zwakte van de ademhalingsspieren. Er is geen effectieve behandeling mogelijk tot op heden. Hoewel de meeste ALS gevallen op zich lijken te staan, komt de ziekte soms in families voor. Aan de hand van deze families zijn mutaties (erfelijke veranderingen in het DNA) in een aantal genen ontdekt die de ziekte veroorzaken. Een van deze genen is het gen genaamd C9ORF72. Een erfelijke afwijking in dit gen is voor zover bekend, de meest voorkomende oorzaak van ALS. Ook wordt deze mutatie gevonden in een vorm van dementie (fronto-temporale dementie) die samen met ALS kan voorkomen in patiënten. Het is zeer belangrijk om meer te weten te komen over het gevolg van de erfelijke afwijking in het C9ORF72 gen want tot op heden is het onduidelijk hoe dit tot de ziekte leidt. Een van de mogelijke manieren waarop deze afwijking tot ALS kan leiden is dat er door mutatie onvoldoende C9ORF72 eiwit wordt aangemaakt. Het is belangrijk te onderzoeken wat de normale functie van het C9ORF72 eiwit in het lichaam is en wat de gevolgen zijn van een verlies van dit eiwit. Dit zal onderzocht worden door het C9ORF72 eiwit weg te halen in muizen en deze muizen te onderzoeken.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het proberen te achterhalen wat de normale functie van het C9ORF72 eiwit is in het lichaam en of een verlies van dit eiwit kan leiden tot symptomen van ALS.

Globale aanpak vraagstelling: We willen in muizen het C9ORF72 eiwit weghalen in zowel het hele lichaam als specifiek in zenuwcellen om de gevolgen hiervan op het lichaam te bekijken. Omdat we willen kijken naar het effect op het hele lichaam en op alle zenuwcellen hebben we proefdieren nodig.

Titel studie: Individuele gevoeligheid voor alcoholverslaving in relatie tot impulsiviteit

DEC nummer: 2013.I.09.070

Individuele gevoeligheid voor alcoholverslaving in relatie tot impulsiviteit

Achtergrond: Alcoholverslaving is een enorm medisch en sociaaleconomisch probleem in onze Westerse maatschappij, waarvoor goede adequate therapeutische behandelingen ontbreken. Alcohol drinken is algemeen geaccepteerd in deze maatschappij en vrijwel iedereen drinkt wel eens een glaasje. Uit onderzoek blijkt dat 10% van de mensen die alcohol gebruiken, echter te veel en langdurig alcohol drinken en kunnen verslaafd

raken aan alcohol. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat alcohol gebruik kan leiden tot impulsief en risicovol gedrag, maar ook dat mensen of dieren die impulsief en risicovol gedrag vertonen, een grotere kans hebben om alcohol te gaan gebruiken en eventueel verslaafd raken aan alcohol. Nader onderzoek naar het ontstaan van alcoholverslaving,en de relatie tussen alcoholverslaving en impulsief keuze gedrag is daarom cruciaal. Juist de factoren die deze individuele variatie in alcoholconsumptie bepalen kunnen zeer informatief zijn om de processen te begrijpen die ten grondslag liggen aan alcoholverslaving en verslaving in het algemeen.
Doel/hypothese: Opheldering verkrijgen over de relatie tussen alcohol verslaving, impulsief keuze gedrag en de gevoeligheid voor belonende stimuli. We verwachten dat ratten die veel alcohol drinken meer impulsieve keuzes laten zien vergeleken met ratten die weinig of geen alcohol drinken. Of de gevoeligheid voor belonende stimuli, een hoge mate van alcohol inname bepaald, of dat een hoge alcohol inname de hersenen zodanig veranderd dat deze meer gevoelig zijn voor belonende stimuli, is onbekend.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie zal worden gekeken naar alcoholverslaving en naar een aantal gedragingen die ten grondslag liggen aan alcoholverslaving. Alcoholverslaving is een complexe hersenziekte waarbij waarschijnlijk meerdere factoren een rol spelen. Omdat wij de gedragingen van alcoholverslaving onderzoeken zullen wij moeten werken met levende dieren en kunnen deze gedragingen niet worden bestudeerd met behulp van een celkweek of computermodellen. In deze studie zullen we onderzoeken of een dier dat sterk reageert op een stimulus (lampje / pedaal), dat geassocieerd is met een beloning zoals sucrose, later ook veel alcohol gaat drinken. Na het twee maanden lang vrijwillig drinken van alcohol gaan we de dieren nogmaals testen, om te onderzoeken of de alcohol hun gedrag heeft veranderd: zijn dieren die veel alcohol hebben geconsumeerd de dieren die al gevoelig waren voor de belonende stimulus of heeft veel alcohol de dieren juist gevoeliger gemaakt voor de belonende stimulus? Vervolgens worden dieren die veel alcohol hebben gedronken vergeleken met dieren die weinig of geen alcohol hebben gedronken in een taak die impulsief keuzegedrag kan meten. In deze taak kunnen dieren kiezen tussen twee beloningen: een beloning waarbij ze één suikerpallet direct kunnen krijgen of een beloning waarbij ze vier suikerpellets kunnen krijgen na een wachtperiode van een aantal seconden (deze varieert van 5-40sec). Daarnaast zal een groep dieren worden gebruikt om te onderzoeken of een kenmerk van alcohol -de verminderde gevoeligheid voor de negatieve gevolgen van middelengebruik- ook toetsbaar is met alcohol als verslavend middel. We zullen onderzoeken hoe de duur van alcoholgebruik van invloed is op de gevoeligheid voor de negatieve gevolgen van alcohol gebruik.

Titel studie: Stabiliteit van bloedgaswaardes en fMRI signaal

DEC nummer: 2013.I.09.071

Functionele MRI (fMRI) in ratten hersenen
Achtergrond: Ratten worden tijdens MRI metingen beademd. Bij deze dieren word de hartslag, zuurstof-

spanning van het bloed, temperatuur en de uitgeademde CO2 gemonitord. De beademingspomp en capnograaf (voor de CO2 meting) staan enkele meters bij het dier vandaan, waardoor de beademing en meting van CO2 mogelijk niet optimaal zijn. Tijdens bepaalde MRI metingen, waarbij gekeken wordt naar minieme verschillen (1-3%) van zuurstofniveaus in het bloed als gevolg van hersenactiviteit, is het extreem belangrijk dat de zuurstofspanning in het bloed stabiel is.
Doel/hypothese: De doelen van dit experiment zijn: 1) Het bepalen van de relatie tussen de CO2 waardes zoals gemeten met de capnograaf en de daadwerkelijke CO2 waardes zoals bepaald aan de hand van bloedgas metingen middels bloedgas analysator (i-STAT). 2) Het bepalen van ideale condities voor de beademing van het dier (o.a. frequentie en druk) om de CO2 in het bloed constant te houden. 3) Het bepalen van de stabiliteit van de MRI metingen. Voor doelstelling 1 en 2 wordt de beademingsapparatuur en capnograaf (inclusief lange lijnen) vanuit de scanner ruimte verplaatst naar de labtafel. De dieren worden beademd volgens de standaard procedures. Vervolgens wordt er een katheter geplaatst in de achterpoot slagader voor bloedafname. Gedurende 3 uur wordt er om de 20 minuten 150ul bloed afgenomen en wordt onder andere de CO2 in het bloed bepaald (i-STAT). Vanwege de katheter worden de dieren gedood aan het eind van het experiment. Voor doelstelling 3 wordt alle apparatuur terug verplaatst naar de scanner ruimte. Met de optimale settings (zoal bepaald op de labtafel) zullen we de stabiliteit van onze fMRI metingen testen. Dit doen we onder andere door ieder dier vier keer te scannen op verschillende dagen (max 1x per week).
Globale aanpak vraagstelling: De dieren worden onder anesthesie gebracht, geïntubeerd zodat ze beademd kunnen worden en krijgen een katheter in de achterpoot slagader voor bloedafname. De beademing wordt op verschillende manieren aangepast en op meerdere tijdstippen word er door de katheter bloed afgenomen zodat de bloedgaswaardes met een bloedgasanalysator bepaald kunnen worden. Om te bepalen hoe een rat reageert op de beademing moeten we gebruik maken van een levend dier.

Titel studie: Effecten van nervus vagus stimulatie op hersenactiviteit

DEC nummer: 2013.I.09.072

Effecten van nervus vagus stimulatie op hersenactiviteit
Achtergrond: Elektrische stimulatie van het autonome zenuwstelsel wordt momenteel gebruikt als behandelmethode voor epilepsie en depressie. Daarnaast wordt onderzocht of deze behandeling ook ingezet kan worden voor patiënten met obesitas. Echter, het is niet duidelijk hoe deze behandeling de hersenactiviteit verandert in deze patiënten. Inzicht in de werking van de therapie zal ons in staat stellen de aard van deze hersenaandoeningen beter te begrijpen maar vooral ook hoe deze behandelmethode ingezet kan worden voor andere psychopathologieën, zoals obesitas.

Doel/hypothese: Deze experimenten hebben als doel te onderzoeken hoe stimulatie van het autonome zenuwstelsel de hersenen beïnvloedt.
Globale aanpak vraagstelling: Ratten zullen geopereerd worden waarbij de vagus zenuw blootgelegd zal worden. Deze zenuw zal vervolgens, terwijl het dier onder anesthesie is, elektrisch gestimuleerd worden. Tegelijkertijd zal m.b.v. meetelektroden de hersenactiviteit gemeten worden. Door voor/tijdens- en na vagus stimulatie te meten kan bepaald worden of en hoe stimulatie van het autonome zenuwstelsel de hersenactiviteit beïnvloedt.
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.

Vergadering 9 oktober 2013

Titel studie: Proteome profiling study of Pcdh9 mutant mice

DEC nummer: 2013.I.10.074

Proteoom analyse van gestoorde sociale informatie verwerking in Pcdh9 mutante muizen
Achtergrond: In recente studies hebben we een uniek diermodel ontwikkeld door een gen te vinden dat direct betrokken lijkt bij het vermogen van muizen om onderscheid te maken tussen bekende en onbekende soortgenoten. In dit model mist de muis een of meerdere kopieën van het Pcdh9 gen, een gen dat bij mensen geassocieerd is met autisme. In andere studies is laten zien dat mutaties van dit gen in muizen de ontwikkeling van een gedeelte van de hersenschors, de somatosensorische cortex, verstoord. Recente technologische vooruitgang heeft het mogelijk gemaakt om van grote aantallen eiwitten tegelijkertijd vast te stellen of ze verschillen tussen mutante en gezonde hersenen. Met deze methode, genaamd proteomics, kan de moleculaire invloed van Pcdh9 in de hersenen worden vastgesteld. Door deze techniek toe te passen op het Pcdh9 model hopen we moleculen te identificeren die lokaal de effecten van de mutante vorm van Pcdh9 kunnen herstellen.
Doel/hypothese: Het doel van de studie is het identificeren van de moleculaire mechanismen waarlangs de mutatie van Pcdh9 sociaal gedrag verstoord. De hypothese is dat we via eiwitspectra moleculen door postmor-

tem brein onderzoek kunnen identificeren die gebruikt kunnen worden om de effecten van Pcdh9 mutatie te herstellen.
Globale aanpak vraagstelling: De relevantie van dit onderzoek blijkt uit het feit dat het Pcdh9 gen eerder in meerdere studies is geassocieerd met autisme en dat ook andere protocadherines (eiwitten) zijn geïmpliceerd in het ontstaan van verschillende neuropsychiatrische stoornissen. Deze studie bouwt voort op eerdere bevindingen in de Pcdh9 knockout muis, zoals hier boven is beschreven. De opzet van het onderzoek betreft het meten van eiwitspectra met behulp van proteomics in Pcdh9 mutante en wildtype muizen. Deze eiwitspectra kunnen later vergeleken worden met onderzoek op andere autisme modellen en zo translationeel inzicht geven over hoe bepaalde genetische afwijkingen de hersenontwikkeling verstoren. Pcdh9 mutante muizen en wildtype muizen zullen op dag 7 na geboorte worden gedood om vervolgens postmortem verschillende eiwit-analyses te kunnen doen in de hersengebieden die afwijkend zijn bevonden bij eerder genoemd Pcdh9 onderzoek. In deze analyses zullen we gebruik maken van verschillende massa spectroscopie technieken, die verschillen in concentraties van bepaalde eiwitten tussen mutante en wild type stammen kunnen aantonen. Al met al hoopt deze studie belangrijke en specifieke mechanismen bloot te leggen achter sociale gedragsproblemen in psychiatrische ontwikkelingsstoornissen.

Titel studie: Opzetten van elektrisch geïnduceerde agressie

DEC nummer: 2013.I.10.075

Het opzetten van een diermodel voor anhedonie in ratten
Achtergrond: Veel antidepressiva werken niet goed, vooral mensen met een gebrek aan plezierbeleving (een kernsymptoom van depressie) reageren niet goed op antidepressiva. Ontwikkeling van een robuust diermodel voor depressie dat meer rekening houdt met de ontwikkeling van een depressie zoals die in mensen voorkomt (lange termijn effecten, natuurlijke stress etc.) is hard nodig. Nu wordt vaak de “chronisch mild stress model” gebruikt, maar deze vinden wij erg onnatuurlijk en gebruiken we daarom liever niet. Enerzijds weten we niet goed hoe antidepressiva werken, anderzijds weten we niet goed welke hersenmechanismen betrokken zijn bij anhedonie (dit is de afwezigheid van plezierbeleving). 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 ver-

liesmodel op deze manier op te zetten, zullen er minder dieren nodig zijn. Ook verwachten we dat een meer gecontroleerde verlieservaring zorgt voor een gelijkwaardige reproduceerbare stressor in de verschillende dieren.

Titel studie: Significance of Lgr4 and Lgr6 proteins in mouse cochlea during development

DEC nummer: 2013.I.10.076

De rol van Lgr4 en Lgr6 eiwitten in de cochlea van de muis tijdens de ontwikkeling

Achtergrond: Gehoorverlies is de meest voorkomende zintuigstoornis met een prevalentie van ongeveer 1 per 1000 geboortes. Daarnaast komt verworven gehoorverlies veel voor, vooral bij ouderen. Gehoorverlies bij of vroeg na de geboorte leidt tot problemen bij het leren van spraak en taal. Verworven gehoorverlies kan tot sociale isolatie leiden. Een beargumenteerde schatting gaat uit van wereldwijd op dit moment 560 miljoen mensen met een gehoorverlies van meer dan 25 dB. Dergelijke schattingen voor Nederland gaan uit van 3% van de bevolking boven de 12 jaar en 25% van de mensen boven de 65 jaar. Uiteraard horen hier hoge kosten bij, zowel door het wegvallen van arbeidsrendement als door zorgkosten, denk alleen maar aan hoortoestellen. Perceptief gehoorverlies ontstaat door degeneratie van bepaalde structuren in het binnenoor inclusief de haarcellen. Dit type gehoorverlies kan veroorzaakt worden door genetische afwijkingen, te harde geluiden, schadelijke stoffen, infecties en veroudering. In zoogdieren is, in tegenstelling tot veel lagere dieren, regeneratie van het zintuigepitheel nog niet mogelijk. Tegenwoordig kunnen we perceptief gehoorverlies wel behandelen met zogenaamde cochleaire implantaten, ook wel binnenoorprotheses genoemd, maar technische beperkingen maken dat dit maar een zeer incomplete oplossing is. Een mogelijk betere oplossing is het induceren van regeneratie van het zintuigepitheel en de geassocieerde zenuwstructuren en dat is dan ook de achtergrond van deze studie. Het precieze doel van de studie is de karakterisering van aanwezigheid en activiteit van LGR receptoren in de cochlea (Engels: Leucine Rich repeat G protein coupled Receptors) van muizen. Deze eiwitten vormen een familie die als markeerder geldt voor stamcellen in maag, darm en haarzakjes. Lgr5 positieve cellen kunnen zich ontwikkelen tot haarcellen in vitro. Er zijn nog twee andere varianten van het eiwit, Lgr4 en Lgr6 en die zijn nog helemaal niet gekarakteriseerd in het binnenoor. Het doel van deze studie is om de rol van Lgr4 en Lgr6 in de ontwikkeling van het binnenoor en van het gehoor te karakteriseren. Een lange termijn doel is uiteraard de regeneratie van het zintuigepitheel, eerst in doof gemaakte muizen, later in mensen. Dit zou een enorme stap voorwaarts zijn in het verbeteren van de kwaliteit van leven van de ernstig slechthorenden, hun familie en de maatschappij in het algemeen.

Doel/hypothese: Eerder onderzoek uit onze groep heeft aangetoond dat Lgr4, Lgr5 en Lgr6 eiwitten in het binnenoor van de muis aanwezig zijn. Het doel van deze studie is daarom het verder onderzoeken van de rol en de significantie van Lgr4 en Lgr6 tijdens de cochleaire ontwikkeling en voor het gehoor.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studie wordt de aanwezigheid en de rol van Lgr4 en Lgr6 eiwitten gedurende de ontwikkeling van het gehoororgaan gekarakteriseerd. Omdat processen betrokken bij de ontwikkeling ook van toepassing zijn op regeneratie, zal dit project bijdragen aan het begrijpen van de mechanismen die belangrijk zijn bij het herstellen van het gehoor in patienten die lijden aan gehoorverlies. In dit project wordt gebruik gemaakt van twee genetisch gemodificeerde muismodellen. Eén van deze modellen wordt gebruikt om de locatie van Lgr6 in het binnenoor van de muis tijdens de ontwikkeling te bestuderen. De locatie van Lgr6 wordt onderzocht door de eiwitten uit de cochlea waarin we geïnteresseerd zijn te visualiseren. Daarnaast zal het gehoor van deze muizen onderzocht worden met een elektrode achter het oor. In het tweede model zal bij muizen met een Lgr4-deficiëntie de significantie van het Lgr4-gen voor het gehoor onderzocht worden, eveneens met een elektrode achter het oor. Vervolgens wordt met behulp van een microscoop onderzocht hoe de afwezigheid van het Lgr4-eiwit de structuur van het binnenoor beïnvloedt. Er is gekozen voor muismodellen omdat dit dier veelal gebruikt wordt in gehooronderzoek. Hierdoor zullen behaalde resultaten direct vergeleken kunnen worden met studies van andere onderzoeksgroepen. Tot slot is het binnenoor van de muis erg verwant aan het humane binnenoor, wat vertaling van de resultaten naar patiënten met gehoorverlies vereenvoudigd.

Titel studie: Optogenetische manipulatie van neurale projecties naar de VTA

DEC nummer: 2013.I.10.077

Invoer van voedselinformatie naar beloningscentra in de hersenen

Achtergrond: Obesitas is een steeds meer voorkomende aandoening, die enorme maatschappelijke en gezondheidsproblemen met zich mee brengt. Omdat obesitas in het grootste deel van de maatschappij veroorzaakt wordt door een verstoring van het eetgedrag, is het belangrijk om een goed begrip te hebben van de hersengebieden die betrokken zijn bij eetgedrag. Op deze manier zal het in de toekomst mogelijk zijn om hier medicatie en/of therapie op toe te passen. Om een beter begrip te krijgen van de hersengebieden die een rol spelen bij eetgedrag wordt gebruik gemaakt van een proefdier (rat). In deze proeven zijn wij vooral bezig met de vraag hoe bepaalde eigenschappen van voedsel zich vertalen naar hersenactiviteit, en hoe die hersenactiviteit invloed heeft op beloningscentra van de hersenen. Wij kijken specifiek naar verschillende hersengebieden waarvan wij denken dat zij een rol spelen bij het aanvoeren van informatie over de caloriewaarde van het voedsel, en andere hersengebieden die een rol spelen bij de smaakwaarde van het voedsel.

Doel/hypothese: Het doel van deze experimenten is om te bepalen of het specifiek remmen van informatie vanuit verschillende hersengebieden naar en van een beloningsgebied in de hersenen ervoor zorgt dat dieren geen voorkeur meer zullen hebben voor dingen die meer calorieën hebben, of lekkerder smaken.

Globale aanpak vraagstelling: Er zullen ratten getraind worden op een gedragstaak waar ze calorie rijk voedsel kunnen verdienen, of voedsel wat qua smaak 'lekkerder' is. Daarna zullen ze een interventie ondergaan waardoor het mogelijk is om tijdens het gedrag van de rat bepaalde connecties tussen hersengebieden te remmen of activeren. Dit zal er dan toe leiden dat wij kunnen bepalen welke projecties tussen hersengebieden de keuze voor calorierijk of smaakrijk voedsel bepalen.

Titel studie: De rol van VTA dopamine neuronen in de vorming van associaties tussen stimuli en beloningen

DEC nummer: 2013.I.10.078

Onderzoek naar de functie specifieke hersencellen die betrokken zijn bij beloning van eetgedrag
Achtergrond: De hersenen bestaan uit verschillende gebieden die 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, zoals bijvoorbeeld voedsel. Daarnaast is het verstoord bij een groot aantal vormen van verslaving. Het huidige onderzoek zal zich bezighouden met de 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 eetgedrag en beloningsgedrag.
Doel/hypothese: Met dit onderzoek vergroten we 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, bij bijvoorbeeld verstoord eetgedrag (obesitas, anorexia).
Globale aanpak vraagstelling: Dieren (muizen) 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: Sociale dysfunctie: een 'dual-hit' aanpak

DEC nummer: 2013.I.10.079

Sociale dysfunctie: een 'dual-hit' aanpak
Achtergrond: Sociale dysfunctie is een kenmerk van verschillende psychiatrische aandoeningen, waaronder schizofrenie en autisme. Problemen in het sociale domein hebben een grote invloed op het dagelijks leven maar kunnen op dit moment niet behandeld worden omdat er weinig bekend is over de neurale systemen die ten grondslag liggen aan sociaal gedrag. Veel psychische stoornissen die gekenmerkt worden door sociale dysfunctie komen al tot uiting in de kindertijd of adolescentie, wat aangeeft dat de ontwikkeling van het sociale brein een delicaat proces is en gevoelig voor bepaalde invloeden/verstoringen. Het bestuderen van de neurale mechanismen van sociaal gedrag in jonge individuen is daarom zeer belangrijk voor het begrijpen van de neu-

robiologie van psychiatrische aandoeningen. Alhoewel het ziektebeeld niet voor iedereen gelijk is, kunnen gemeenschappelijke hersenmechanismen bestaan voor de symptomen in het sociale gedrag. Therapieën die specifiek zijn toegespitst op het verbeteren van sociaal functioneren zijn daarom een waardevolle bijdrage voor de huidige therapieën en kunnen de kwaliteit van leven van vele mensen verbeteren.
Doel/hypothese: 1) Het identificeren van biomarkers die leiden tot abnormaal (sociaal) gedrag in volwassenen. 2) Het in kaart brengen van specifieke hersenstructuren en neurotransmitter systemen van sociaal functioneren.
Hypothese: Verminderde sociale interactie gedurende de kindertijd en adolescentie in combinatie met een genetische gevoeligheid leidt tot abnormaal sociaal-cognitief gedrag op volwassen leeftijd.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek gaan we kijken of een bepaalde genetische kwetsbaarheid, waarvan bekend is dat het voorkomt bij autisme en schizofrenie en leidt tot een verstoorde hersenontwikkeling (i.e. een mutatie van het neurexine 1 gen) in combinatie met een bepaalde sociale insult (i.e. speldeprivatie, spel is zeer belangrijk voor de ontwikkeling van mens en dier) leidt tot een volledige ontwikkeling van de aandoening, terwijl de afwezigheid van deze insult niet leidt tot deze aandoeningen. Verder zullen in dit onderzoek de hersengebieden en signaalstoffen die hierbij betrokken zijn worden onderzocht. Hierbij vergelijken we wildtype dieren (dieren met het intacte gen) met knock-out dieren (dieren die dat gen niet hebben) (invloed genetische kwetsbaarheid) en tevens splitsen we beide groepen waarbij we de helft speldepriveren (invloed van omgevingsfactoren op genetische kwetsbaarheid) en testen deze dieren op volwassen leeftijd in verschillende testen voor sociaal en probleemoplossend/impulsief gedrag. Proefdieren zijn hierbij nodig omdat sociale interacties alleen in een levend organisme getest kan worden. Ratten zijn hier een goed model voor omdat spelgedrag zeer duidelijk is en goed te kwantificeren.

Vergadering 6 november 2013

Titel studie: Effect of treatment with mifepristone after early life stress on behavioral control in an attention task

DEC nummer: 2013.I.11.080

Beperken van effecten van negatieve vroege levenservaringen op de structurele en functionele ontwikkeling van de hersenen in een ratstudie
Achtergrond: Epidemiologische studies suggereren een relatie tussen negatieve gebeurtenissen gedurende de vroege (postnatale) periode en de moeilijkheid om goed te functioneren in de maatschappij en zelfs 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 glucocorticoiden (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: We onderzoeken wat de effecten zijn van maternale deprivatie (MD) in het vroege leven, op de controle over gedrag op volwassen leeftijd. We gaan dit onderzoeken in een attentie test, de 5-choice serial reaction time task. Daarnaast bestuderen we of deze effecten kunnen worden voorkomen door de glucocorticoid receptor op adolescente leeftijd te blokkeren (farmacologische interventie) of door in diezelfde periode een verrijkte omgeving aan te bieden (non-farmacologische interventie).
Globale aanpak vraagstelling: De dieren zullen drie dagen na de geboorte voor 24 uur van de moeder worden gescheiden. Op adolescente leeftijd worden zij behandeld met een placebo of met RU486. Een andere groep dieren krijgt in deze periode een verrijking van de thuiskooi. Vervolgens wordt het effect van deze behandelingen op de hersenen en op het vasthouden van aandacht en controle over gedrag bekeken. Deze handelingen zijn in mensen niet op deze manier mogelijk. De nieuwe inzichten die verkregen worden 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.

Titel studie: Interactie tussen Isoproterenol en corticosteron op de glutamaterge transmissie van de basolaterale amygdala

DEC nummer: 2013.I.11.081

De wisselwerking tussen noradrenaline en corticosteron op de neurotransmissie van de amygdala (hersengebied) bij muizen
Achtergrond: Stress is een belangrijke risicofactor voor psychiatrische aandoeningen als depressie, angststoornissen en posttraumatische stress syndroom. Wij zijn geïnteresseerd in de vraag hoe stressvolle situaties en de daarmee gepaard gaande hormonale veranderingen

de communicatie tussen hersencellen beïnvloeden. We verwachten met ons onderzoek op termijn een bijdrage te leveren aan de volksgezondheid.
Doel/hypothese: Met de aangevraagde experimenten willen we meer inzicht krijgen in de mechanismen die betrokken zijn bij het verwerken van leer- en geheugenprocessen bij emotioneel stressvolle gebeurtenissen. Deze processen spelen zich af in een specifiek hersengebied (de amygdala).
Globale aanpak vraagstelling: Bij stress komen allerlei stoffen in het lichaam vrij, waaronder noradrenaline en corticosteron. Deze stoffen komen ook in de hersenen en hebben invloed op het functioneren daarvan. Ze spelen een rol bij het beoordelen en vastleggen van een stressvolle gebeurtenis. Bij teveel stress kan het echter een negatieve invloed hebben op het functioneren en kan het bijvoorbeeld leiden tot depressiviteit en angststoornissen. Met deze studie willen we de onderlinge invloed van het stresshormoon corticosteron en noradrenaline op de signaaloverdracht meten in de hersenen van de muis. Het hersengebied waarin we geïnteresseerd zijn is de basolaterale amygdala, een gebied dat betrokken is bij de verwerking van emotionele gebeurtenissen. We weten al veel van de werking van corticosteron, maar nog weinig over de invloed die noradrenaline en corticosteron op elkaar uitoefenen. Deze studie kan belangrijke informatie opleveren voor eventuele behandelingsmethoden van stress gerelateerde aandoeningen.
De experimenten worden uitgevoerd met een elektrofysiologische techniek in vers gesneden plakjes hersenweefsel (van muizen). Het meten van de activiteit vereist het gebruik van materiaal met normaal ontwikkelde verbindingen in de hersenen. Dit is een zeer complex systeem dat niet met cellijnen nagebootst kan worden. De signaaloverdracht van hersencellen verandert gedurende embryonale ontwikkeling en daardoor is het gebruik van gekweekte (primaire) cellen en cellijnen niet mogelijk. Verder zijn er zijn geen goede vervangende methoden aanwezig.

Titel studie: De functie van PTEN in de thalamus

DEC nummer: 2013.I.11.082

De functie van het eiwit PTEN in de thalamus
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 thalamus een hersengebied is dat belangrijk is in het doorgeven van zintuigelijke waarnemingen. Dat proces is van groot belang in de ontwikkeling van autisme. De functie van het eiwit PTEN in de ontwikkeling van de thalamus is nog onbekend. Onderzoek naar de functie van PTEN in dit specifieke hersengebied 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. In dit onderzoek wordt PTEN uitgeschakeld in de ontwikkelende thalamus. Daarvoor zullen zwangere moeders het middel tamoxifen oraal ontvangen, zodat het eiwit in de embryo's wordt uitgeschakeld. Nakomelingen worden zowel prenataal als postnataal onderzocht. Muizen zullen in verschillende stadia van de ontwikkeling op een snelle, pijnloze manier worden geëuthanaseerd en de hersenen zullen worden verzameld. 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: Role of leptin in dorsomedial hypothalamus in body weight regulation

DEC nummer: 2013.I.11.083

Hoe reguleert de dorsomediaal hypothalmus (DMH) lichaamsgewicht en lichaamstemperatuur?
Achtergrond: Dieren op een vet-suiker-rijk dieet komen aan in lichaamsgewicht. Als de suiker en vetrijke voeding uit het dieet gehaald wordt verliezen de dieren geen lichaamsgewicht. Maar ze hebben een lagere lichaamstemperatuur vergeleken met de periode dat ze toegang hadden tot vet en suikerrijke voeding. Verder hebben ze ook een lagere bloedspiegel van leptine (hormoon dat vrijgegeven wordt uit vetweefsel). Als deze dieren leptin geïnjecteerd krijgen dan gaat hun lichaamstemperatuur omhoog. In een voorgaande studie hebben we gekeken naar de expressie van c-fos. Expressie van c-fos is een indirecte marker voor neuronale activiteit, verhoging van c-fos in een neuron wijst op recente activiteit. Uit deze studie blijkt dat de DMH (hersengebied in de hypothalamus) belangrijk is in verhoging van lichaamstemperatuur. Dat betekent dat een lager leptine niveau de veroorzaakt is van lagere lichaamstemperatuur en dat dit gebied belangrijk is voor de verhoging van temperatuur door leptine.
Overige informatie:
Het hersengebied DMH is een deel van de hypothalamus en is belangrijk voor stofwisseling en temperatuur regulatie. Schade in de DMH leidt tot een verlaging van lichaamstemperatuur en vermindering van voedsel inname. Er zijn leptine receptoren in de DMH gevonden. We willen in deze studie bestuderen of deze receptoren belangrijk zijn voor thermoregulatie. Leptine is een hormoon dat afgegeven wordt vanuit het witte vetweefsel. Dit hormoon komt via de bloedbaan bij het brein. In het brein zijn leptine receptoren die verschillen qua functies (namelijk, lichaamstemperatuur en voedsel inname).
Doel/hypothese: Door dit experiment willen we vaststellen of leptine signareling in de DMH belangrijk is voor thermoregulatie in ratten. Daarom spuiten we leptine perifeer (in de buikholte) en een leptine antagonist in de DMH. Als leptine signareling belangrijk is voor thermoregulatie dan kunnen we de effecten van temperatuur

door leptine blokkeren met een antagonist. Daarnaast willen we, na afloop van het experiment, ook kijken naar UCP mRNA in het bruine vetweefsel (BAT).
Om dit te verduidelijken; Er zijn verschillen tussen de functie van bruin en wit vet. Bruin vet ligt onder andere tussen de schouderbladen en is belangrijk voor temperatuur regulatie. UCP-1 of Uncoupling eiwit -1 in het bruine vet zorgt ervoor dat vet (in de vorm van triglyceriden) wordt verbrand om warmte te genereren. Hierdoor stijgt de gen expressie van UCP-1. Door naar expressie van UPC-1 mRNA te kijken kunnen we bepalen hoe actief het bruine vetweefsel is geweest om te lichaamstemperatuur te verhogen.
Globale aanpak vraagstelling: Lijnen is een van de meest gebruikelijke methoden om lichaamsgewicht te verliezen. Maar meestal is het niet succesvol. Door onze experimenten hebben we aangetoond dat inname van minder calorieën leidt tot een lager leptine niveau en een lagere lichaamstemperatuur. Met het huidige experiment gaan we kijken of de DMH een belangrijk hersengebied is waar thermoregulatie door leptine wordt reguleert. Ons experiment kan alleen in dieren uitgevoerd worden omdat we naar de fysiologie kijken. De fysiologie van mens en ratten hebben veel overeenkomsten. Dus gebruiken we een rat model voor onze studie. De ratten krijgen een zender in de buikholte geïmplanteerd, zodat we continue de temperatuur en activiteit kunnen registreren zonder het dier te storen. Daarnaast krijgen ze canules in de DMH waardoor we de leptine antagonist kunnen injecteren. Een deel van de ratten gaat op een vet en suikerrijk dieet, de rest blijft op het normale dieet. In verschillende fases van het experiment wordt leptine en de leptine antagonist geïnjecteerd.
En wordt er gekeken naar de invloed op eetgedrag en temperatuur. Aan het eind van het experiment worden de dieren geëuthanaseerd en wordt al het vetweefsel gewogen en het bruine vetweefsel wordt ingevroren voor verdere analyse.

Titel studie: Relation between epigenetic mechanism and early life stress

DEC nummer: 2013.I.11.084

De invloed van moederzorg op de structurele en functionele ontwikkeling van de hersenen van de rat
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 of . 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 drie 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 27 november 2013

Titel studie: The effects of different rearing conditions of the development of physiology, brain and behaviour during the first 10 weeks of the laying hen

DEC nummer: 2013.I.11.085

De effecten van verschillende opgroei-omstandigheden op de ontwikkeling van de leghen
Achtergrond: Kippen worden intensief gebruikt in de dier-productie industrie. Een belangrijk aspect van dierenwelzijn zijn de omstandigheden waaronder een dier opgroeit. Deze periode is vaak gevoelig voor omgevingsfactoren en bepaalt voor een groot gedeelte hoe de dieren later met situaties en problemen om zullen gaan en dus voor een groot deel hun welzijns-beleving. Een belangrijk aspect van de opgroei-omstandigheden voor de leghen is ‘crowding’. Dit kan gedefinieerd worden als het aantal kuikens per m2. Voorgaand onderzoek naar dit fenomeen (Pettit-Riley en Estevez, 2001; Pettit-Riley et al., 2002; Gamallo et al., 1986) heeft uitgewezen dat de dichtheid significante verschillen in gedrag teweeg kan brengen. In dit onderzoek zal worden gekeken de effecten van drie crowdings-factoren op de ontwikkeling van het gedrag, corticosterone concentraties in bloed en veren, en de ontwikkeling van de fysiologie van de hersenen. Door al deze parameters te onderzoeken kan een meer volledig beeld worden getekend van de effecten van crowding.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om de gevolgen van verschillende crowdings-omstandigheden te onderzoeken op de ontwikkeling van een leghen. De parameters die onderzocht zullen worden zijn; gedrag, fysiologie van de hersenen en corticosterone concentraties in het bloed en veren.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek zullen de kuikens in zes groepen worden verdeeld. Er zijn drie condities: conventional crowding (CC), wat gelijk is aan de omstandigheden van de dierenindustrie; overcrowding (OC), waar er significant meer kuikens per m2 worden gehouden dan in CC; undercrowding (UC), waar significant minder kuikens per m2 worden gehouden dan in CC. Binnen deze drie condities worden voor elke conditie twee groepen gemaakt. De eerste groep zal worden gedood op een leeftijd van 3/4 weken oud en de tweede groep zal worden gedood wanneer ze 10 weken oud zijn. Deze set-up zorgt ervoor dat we heel duidelijk de effecten van verschillende crowding-omstandigheden zichtbaar kunnen maken en daarnaast ook de ontwikkeling van de hersenen kunnen monitoren. Gedurende het experiment zullen de kuikens lichte gedragstesten ondergaan en op de leeftijd van 6 en 10 weken worden ook bloed- en veer monsters genomen voor de corticosterone-evaluatie. Na de euthanasie wordt er een histologische analyse op de hersenen gedaan. Hier wordt onder andere gekeken naar het seretonergisch systeem (speelt een rol in verenpikken) en het dopaminergisch systeem (belangrijk voor motivatie). Het is cruciaal dat voor dit onderzoek de kip wordt gebruikt aangezien het gaat om de effecten op het gedrag, fysiologie en cognitie van kippen. Dit onderzoek kan enkel uitgevoerd worden in intacte dieren en aangezien het verbeteren van welzijn in kippen onderdeel is van het doel van dit onderzoek, is het essentieel om dit daadwerkelijk in leghennen te evalueren.

Titel studie: Optogenetica en Alcoholverslaving

DEC nummer: 2013.I.11.086

Optogenetica en alcoholverslaving
Achtergrond: Alcoholverslaving is een groot medisch en maatschappelijk probleem waar nog geen adequate therapie voor beschikbaar is. Een van de kernkenmerken van verslaving is controleverlies over verslavende middelen. Wij hebben diermodellen ontwikkeld om de mechanismen van het ontstaan van controleverlies over alcoholgebruik te kunnen bestuderen. Door deze diermodellen met een nieuwe techniek, optogenetica, te combineren willen wij de systemen in de hersenen in kaart brengen die bijdragen aan het ontstaan van alcoholverslaving
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om te bepalen welke systemen in de hersenen bijdragen aan het ontstaan van alcoholverslaving.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie gaan wij muizen en ratten alcohol laten drinken. Bovendien gaan we bepalen of de dieren minder gevoelig worden voor een negatieve stimulus, wat zou duiden op controleverlies over alcoholgebruik. Vervolgens maken we gebruik van optogenetica om met behulp van licht specifieke gebieden en verbindingen in de hersenen te (in)activeren.

Op deze manier kunnen wij de systemen in de hersenen die bijdragen aan het ontstaan van alcoholverslaving in kaart brengen.

Titel studie: Onderzoek naar de gevolgen van leren op de structuur en functie van het gezonde brein

DEC nummer: 2013.I.11.087

De effecten van aanleren van nieuwe bewegingen op het de hersenen

Achtergrond: In de huidige samenleving speel hersenletsel een steeds grotere rol in de zorg. Een groot deel hiervan bestaat uit patiënten die een beroerte hebben gehad. De gevolgen van hersenletsel kunnen erg groot zijn. 'De hersenen zijn in zekere mate in staat om zichzelf te herstellen, bijvoorbeeld na een beroerte of hersenletsel, echter dit is een langzaam proces. Deze studie heeft als doel meer te weten te komen over het onderliggende mechanisme van dit herstelvermogen, wat ook wel plasticiteit genoemd wordt. Om dit plasticiteitsmechanisme te kunnen bestuderen maken we gebruik van een model, waarin ratten een complexe motortaak aanleren. In de periode dat de dieren de taak leren, zullen de betrokken hersengebieden veranderingen doormaken die we kunnen meten met medische beeldvorming. Door te bestuderen welke veranderingen het brein ondergaat bij het aanleren van deze motortaak, kunnen we uiteindelijk meer te weten komen over dit onderliggende plasticititeitsmechanisme. De bevindingen dragen bij aan het ontwikkelen van behandelingen en therapieën om het herstel vermogen van de hersenen bij patiënten met hersenletsel te bevorderen.

Doel/hypothese: Doel van het onderzoek is ontdekken welke verandering in de hersen en hersenactiviteit optreden bij het aanleren van nieuwe bewegingen.

Globale aanpak vraagstelling: Wanneer ratten een nieuwe beweging aanleren, dan ontstaan er veranderingen in het brein. Door voor en na deze leerperiode de hersenstructuur en hersenactiviteit te meten, kan bepaald worden welke veranderingen de hersenen hebben ondergaan. De veranderingen in de hersenen zullen op verschillende niveaus gemeten worden; dit vereist dat we het weefsel kunnen bestuderen op celniveau met verschillende technieken. Op deze manier hopen we meer inzicht te krijgen in het mechanisme achter het herstelvermogen van de hersenen.

Titel studie: Identificatie van microRNAs en hun targeteiwitten die de ontwikkeling van het zenuwstelsel reguleren

DEC nummer: 2013.I.11.088

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 in een cel zitten reguleren en mede daardoor bepalen ze de identiteit van cellen. 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 om 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 de werking van microRNAs en hun target-eiwitten die betrokken zijn bij de ontwikkeling van het zenuwstelsel. We willen kijken wat hun effect is op bijvoorbeeld de uitgroei van zenuwuitlopers 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 in deze aanvraag beschreven. We willen zenuwcellen van jonge pasgeboren muizen kweken. Daartoe worden muizen tot een 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 de microRNAs en hun target-eiwitten zal worden onderzocht. Vervolgens willen we de ontwikkeling van zenuwcellen in hun normale omgeving, onder invloed van microRNAs, bekijken door middel van in het injecteren van deze microRNAs in de hersenen tijdens de embryonale ontwikkeling. We injecteren embryo's tijdens een operatie van de zwangere moeder met miRNAs en volgen de ontwikkelingsprocessen over de tijd. We zullen op twee verschillende tijdstippen na de operatie de effecten van de microRNAs bekijken, namelijk net voor en een paar dagen na de geboorte. Zo kan bekeken worden hoe specifieke zenuwbanen worden gevormd onder invloed van de microRNAs en hoe de eiwitten die ze reguleren zich ontwikkelen. Als voorstudie hiervoor zal een experiment uitgevoerd worden waarbij embryo's na isolatie geïnjecteerd worden met microRNA. De breintjes ontwikkelen zich als plakjes in kweekbakjes verder, zodat we de grove ontwikkelingsparameters kunnen volgen. Dit geeft essentiële basiskennis voor de operatie-experimenten, die in uitvoer vele malen complexer zijn. Echter de ontwikkeling van zenuwnetwerken in een intact brein geeft uiteindelijk de doorslag, omdat hier complexe processen plaatsvinden die in gesneden hersenplakjes in een kweekbak verloren gaan. Als laatste willen we eiwit kleuringen doen op hersenplakjes van muizen van verschillende leeftijden om te kijken naar waar de eiwitten die gereguleerd worden door de microRNAs in het brein voorkomen.

Titel studie: Vermindert D-JNKi behandeling hersenschade in een ratmodel voor witte stof schade in preterme neonaten?

DEC nummer: 2013.I.11.089

Het effect van JNK remming op witte stof hersenschade bij te vroeg geboren kinderen
Achtergrond: Ongeveer 10% van alle baby's wordt te vroeg geboren. Door betere neonatale zorg kunnen we de baby's steeds jonger in leven houden maar een gevolg is wel dat te vroeg geboren baby's heel vaak te kampen

krijgen met schade aan de witte stof van de hersenen, met cognitieve (geheugen/leren) en/of motorische (o.a. spasticiteit) beperkingen als gevolg. Grote risicofactoren voor het krijgen van witte stof hersenschade zijn het doormaken van een ontsteking in de baarmoeder en een moeilijke start met de ademhaling en bloedcirculatie (lage zuurstofspanning) net na de geboorte. Uiteindelijk leiden deze processen tot schade aan de cellen waaruit de witte stof is opgebouwd, de oligodendrocyten. Een eiwit dat belangrijk is bij het regelen van schade aan witte stof cellen is JNK. We weten dat schadelijke processen zoals ontsteking en het ontstaan van andere factoren, zoals vrije radicalen, geactiveerd kunnen worden door JNK. Eerder onderzoek van onze groep heeft aangetoond dat het remmen van JNK middels een kleine peptide, D-JNKi, de hersenen kan beschermen tegen celdood door zuurstofgebrek in een model voor voldragen baby's met hersenschade.

Doel/hypothese: Het doel van dit project is om te onderzoeken of ratten die behandeld worden met D-JNKi minder witte stof hersenschade hebben dan ratten die behandeld worden met een oplosmiddel, in een ratmodel voor premature witte stof hersenschade. Dit geeft een groot inzicht in de rol van JNK tijdens schade aan de witte stof voorlopers en kan leiden tot een beschermende therapie voor de premature pasgeborene.

Globale aanpak vraagstelling: Witte stof hersenschade wordt bij ratten geïnduceerd door een combinatie van antenatale ontsteking (bij de moederrat tijdens de zwangerschap) en zuurstofgebrek. Direct na blootstelling aan zuurstofgebrek wordt een deel van de rattenpups behandeld met D-JNKi, ter controle wordt een ander deel behandeld met een zoutoplossing. De rattenpups worden op verschillende tijdstippen gedood om te kijken naar het effect van D-JNKi op het ontstaan van witte stof hersenschade, dit zullen wij doen d.m.v. verschillende kleuringen in de hersenen. Ook zullen wij kijken naar het effect van D-JNKi op het remmen van vrije radicalen en inflammatie en celdood in de hersenen d.m.v. biochemische metingen. Wegens de complexe omgeving van het brein en de vele factoren die een rol spelen, o.a. de ontsteking in de baarmoeder, is het noodzakelijk om voor deze experimenten een diermodel te gebruiken. Ook spelen meerdere functiesystemen een rol, o.a. de bloedcirculatie, de bloedhersenbarrière, de placentaire barrière, en het immuunsysteem. Dit maakt het gebruik van intacte dieren onoverkomelijk.

Titel studie: Dopaminergic modulation of psychiatry-related behaviours

DEC nummer: 2013.I.11.090

Rol van dopamine in de regulatie van psychiatrie-gerelateerd gedrag

Achtergrond: Het is bekend dat dopamine een belangrijke rol speelt in de regulatie van verschillende typen gedrag, waaronder impulsiviteit en activiteit. Verstoringen in het dopaminesysteem worden gerelateerd aan psychiatrische stoornissen, zoals ADHD en schizofrenie. De precieze relatie tussen activiteit van het dopaminesysteem en psychiatrische symptomen is echter nog niet bekend.

Doel/hypothese: In dit onderzoek willen wij aan de hand van een nieuwe techniek (DREADD) selectief de activi-

teit van dopamine-neuronen in het brein moduleren en onderzoeken wat het effect hiervan is op gedragstypen die verstoord zijn in psychiatrische aandoeningen. Globale aanpak vraagstelling: Ratten krijgen een gen voor een nieuwe receptor in hun dopamine-neuronen d.m.v. een virusinjectie in het betreffende hersengebied. Vervolgens krijgen ze een stof toegediend die deze receptoren activeert en daarmee de activiteit van de dopamine-neuronen stimuleert. Na deze injectie wordt het gedrag van de dieren getest in verschillende testopstellingen die o.a. aandacht en impulsiviteit meten.

Titel studie: Influence of leptin and ghrelin treatment on fMRI responses

DEC nummer: 2013.I.11.091

De invloed van energiebalans hormonen op fMRI activiteit

Achtergrond: De link tussen homeostatische regulatie van voedselinname (het al dan niet behoefte hebben aan voedingsstoffen) en motivationele regulatie hiervan, is tegenwoordig belangrijker dan ooit. Lekker voedsel is in ruime mate verkrijgbaar in de Westerse samenleving en de belonende waarde ervan kan de motivatie voor eten doen toenemen. Dit kan bijdragen aan over-eten, dat weer leidt tot de ontwikkeling en instandhouding van overgewicht en obesitas. Er is al veel bekend over de cellulaire mechanismen die de energie balans reguleren, maar het is onbekend hoe dit zich verhoudt tot de verandering in functionele activatie in het brein die zichtbaar is in menselijke MRI studies (scan techniek waarbij activatie zichtbaar gemaakt wordt). Daarom is dit systeem erg nuttig en bovendien belangrijk om mechanismen in het brein te bestuderen die ten grondslag liggen aan activiteit zichtbaar met functionele MRI (fMRI). Verschillende fMRI studies bij mensen hebben gekeken naar de invloed van leptine (een verzadigingshormoon) en ghreline (een honger-hormoon) op de activiteit in het brein. Hersengebieden waarvan een verandering in activatie gevonden wordt, zijn de laterale hypothalamus, het ventrale tegmentale gebied en de nucleus accumbens. Deze gebieden zijn elk betrokken bij bepaalde aspecten van eetgedrag. De laterale hypothalamus speelt bijvoorbeeld een zeer belangrijke rol bij de honger/verzadigings regulatie van eetgedrag, maar is ook betrokken bij de motivatie voor eten. Dit gebied is verbonden met het ventrale tegmentale gebied, dat op zijn beurt weer verbonden is met de nucleus accumbens. Samen spelen deze gebieden een zeer belangrijke rol bij motivationeel gedrag, beloning en verslaving. Deze drie gebieden vormen zodoende een netwerk dat belangrijk is voor regulatie van eetgedrag. Leptine en ghreline hebben beide invloed op dit netwerk, maar welke neurale mechanismen ten grondslag liggen aan de verandering in activatie die men ziet op fMRI scans, is nog onduidelijk. Gelukkig is van beide stoffen al veel bekend op het celniveau en om dit te kunnen koppelen aan menselijke fMRI data.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is het begrijpen van neurale mechanismen die ten grondslag liggen aan een verandering in hersenactiviteit zichtbaar met fMRI in een netwerk dat betrokken is bij eetgedrag. Dit doen wij door middel van dierexperimenteel onderzoek bij ratten. Omdat er over het systeem van energie

balans al veel kennis is (bij mens en rat), is er voor dit systeem gekozen opdat deze kennis gekoppeld kan worden naar de mens.
Globale aanpak vraagstelling: Gehongerde en verzadigde ratten worden behandeld met leptine en Ghreline. Voor en na deze injectie zullen wij fMRI scans van het rattenbrein maken. Tijdens het scannen zullen we in het bijzonder letten op activiteit in de hersengebieden die ook bij menselijke studies gevonden zijn, te weten de laterale hypothalamus, het ventrale tegmentale gebied en de nucleus accumbens. Zo kunnen we bekijken welke invloed honger en verzadiging, en behandeling met leptine en ghreline hebben op activiteit in een netwerk dat belangrijk is voor eetgedrag. Deze resultaten kunnen we vervolgens vergelijken met data van vergelijkbare studies in mensen die laten zien dat leptine en ghreline zorgen voor een verandering in activatie in de genoemde hersengebieden. Om de vele kennis die beschikbaar is over dit systeem in het dieronderzoek te kunnen koppelen aan fMRI studies en data daarvan in de mens, hebben we proefdieren nodig. In deze studie wordt gekeken naar een compleet mechanisme en dit kan alleen in een intact dier uitgevoerd worden. Daarnaast zorgen wij ervoor dat er zo min mogelijk dieren nodig zijn, doordat elk dier zijn eigen controle is.

Titel studie: Rol van de chemokine Cxcl10 op de migratie van mesenchymale stamcellen naar het hypoxisch-ischemisch beschadigd hersengebied

DEC nummer: 2013.I.11.092

De rol van het eiwit Cxcl10 op de migratie van stamcellen naar het beschadigde hersengebied
Achtergrond: Hersenschade door een tekort aan zuurstof en bloedtoevoer (hypoxisch-ischemische (HI) hersenschade) 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. Deze kinderen ontwikkelen motorisch en mentale beperkingen als gevolg van het tekort aan zuurstof en bloedtoevoer. De mechanismen betrokken bij HI hersenschade zijn slechts gedeeltelijk bekend en de therapeutische mogelijkheden zijn erg beperkt. In een eerdere studie hebben we stamcellen via de neus toegediend na hersenschade. Uit deze studie bleek dat de muizen na de behandeling met stamcellen een verbeterde motor functie hadden. Ook was er een afname van het schadegebied na de behandeling. In deze studie gaan we onderzoeken hoe de stamcellen naar het schadegebied migreren. We hebben uit een eerdere studie bepaald dat het eiwit Cxcl10 mogelijk betrokken is bij het aantrekken van de stamcellen naar het schade gebied. Dit willen we in deze studie verder onderzoeken.
Doel/hypothese: Bepalen of de factor Cxcl10 de in de neus toegediende stamcellen naar het beschadigde hersengebied aantrekt.

Globale aanpak vraagstelling: De receptor die aan Cxcl10 bindt op de stamcellen wordt geblockt, zodat de stamcellen niet meer aan Cxcl10 kunnen binden. Daarna worden muizen met hersenschade behandelt met deze stamcellen via de neus. Deze stamcellen kunnen dus niet meer op Cxcl10 reageren en daardoor kan gekeken worden of deze stamcellen in het beschadigde hersengebied terechtkomen. Verder gaan we kijken of de motoriek verbetert en het lesievolume afneemt. We geven de stamcellen op een tijdstip waarvan we weten dat de cellen niet meer aankomen, om zo de migratie van de stamcellen te stimuleren. Zoals eerder gezegd is hersenschade door een tekort aan zuurstof en bloedtoevoer een van de meest voorkomende oorzaken van sterfte of blijvende neurologische aandoening bij vroeggeboren baby's. Op het moment zijn er maar beperkte therapeutische mogelijkheden. Stamcel toediening via de neus blijkt uit eerdere studies de motoriek te verbeteren en het lesievolume te verminderen. Onze studies laten zien dat dit een veelbelovende therapeutische mogelijkheid is. Maar voordat het naar de kliniek kan worden vertaald moeten we goed begrijpen hoe de stamcellen vanuit de neus in het beschadigde hersengebied terecht komen. Dit kunnen we alleen in een muismodel bestuderen omdat wij de hersenen niet met een computermodel of in een petrischaaltje kunnen nabootsen.

Titel studie: Studie naar de emoties en besluitvorming van varkens die geïsoleerd en niet-geïsoleerd zijn geweest

DEC nummer: 2013.I.11.093

Studie naar de effecten van het isoleren van varkens (door hen een nacht te isoleren van de soortgenoten) op emoties en besluitvorming van varkens

Achtergrond: In de commerciële intensieve veehouderijsystemen ondervinden varkens vaak stress. Dit komt bijvoorbeeld door de varkens te verplaatsen naar een nieuw hok of groepen onderling opnieuw samen te stellen (mixing). Bij mensen die zich niet prettig voelen, bv. als gevolg van stress, werd gevonden dat ze grotere risico's nemen in de Iowa Gambling taak. Mensen die geen stress ondervinden, en zich dus wel prettig voelen, zullen optimistischer zijn en minder risicovolle beslissingen nemen. Met een aangepaste versie van de Iowa Gambling taak kan ook naar de emotionele staat en besluitvorming bij varkens worden gekeken. Deze studie kijkt naar het emotionele gedrag en besluitvorming van varkens die een nacht geïsoleerd zijn geweest van hun soortgenoten. Dit wordt vergeleken met varkens die niet een nacht geïsoleerd zijn geweest.

Doel/hypothese: Gedurende deze studie zal er worden gekeken naar emoties en besluitvorming van varkens die een nacht geïsoleerd zijn geweest en varkens die de nacht bij hun soortgenoten hebben doorgebracht. Dit onderzoek kan inzicht geven in het welzijn van het dier, waardoor maatregelen getroffen kunnen worden om het welzijn te verbeteren. Ook kan het varken als een modeldier worden beschouwd voor andere zoogdieren.

Eventueel zouden deze resultaten ook gegeneraliseerd kunnen worden naar de mens. Varkens die een nacht geïsoleerd zijn geweest zullen de Iowa Gambling taak minder goed volbrengen dan varkens die niet een nacht geïsoleerd zijn geweest, d.w.z. dat de varkens die geïsoleerd zijn geweest meer problemen hebben met de besluitvorming en pessimistischer zullen zijn.
Globale aanpak vraagstelling: Een groep varkens is gedurende voorgaande onderzoek, na het spenen opgegroeid in een verrijkte omgeving. Na 15 weken zal er worden gestart met het vervolgonderzoek en het aanleren van de Iowa Gambling taak. De varkens blijven gedurende het hele onderzoek in een verrijkte omgeving gehuisvest. Dit wil zeggen: stro als bodemmateriaal en er is varkensspeelgoed aanwezig in het hok. De varkens zijn er al aan gewend om alleen de holeboard test te doorlopen. De Iowa Gambling taak heeft echter een andere testopstelling. Nadat de dieren gewend zijn om alleen de Iowa Gambling taak te doorlopen, zullen ze hierin getest worden. Hierbij moeten de varkens kiezen voor een hoge of een lage beloning, met een groot of laag risico. Wanneer zij na een x aantal dagen de test goed doorlopen, worden vijf willekeurig gekozen dieren één voor één een nacht geïsoleerd. Sociale isolatie is een stressfactor. Hierna zullen zij weer de test doorlopen. Ook de andere dieren zullen worden getest. Om de mate van stress te kunnen bepalen, wordt er vóór en tijdens de test speeksel afgenomen. De dieren kauwen op een wattenstaafje. In het verkregen speeksel wordt het cortisol gehalte bepaald. Het kauwen op het wattenstaafje doen de dieren uit zichzelf en niet onder dwang. Deze procedure levert dan ook geen stress op voor de dieren. Wanneer er fysieke of psychische stress wordt ervaren, komt het hormoon cortisol vrij.

ANDERE VERGUNNINGHOUDER

Universiteit Twente

Titel studie: Neuronal network behavior of the basal ganglia due to deep brain stimulation

DEC nummer: 2013.I.02.018

Veranderingen in neurale netwerken ten gevolge van hersenstimulatie zoals toegepast bij patiënten met de ziekte van Parkinson

Achtergrond: De behandeling van de ziekte van Parkinson met hersenstimulatie is erg effectief en stelt patiënten in staat om in grote mate weer zelfstandig te functioneren. Het beter begrijpen van de werking ervan kan helpen de behandeling te optimaliseren en patiënten beter te behandelen.

Doel/hypothese: Langdurige veranderingen in de overdracht van prikkels tussen hersencellen kunnen worden opgewekt door elektrische stimuli die vergelijkbaar zijn met de toepassing van diepe hersenstimulatie. In deze experimenten onderzoeken we hoe dit tot stand komt en wat de rol is van neurotransmitters zoals dopamine, de stoffen benodigd voor een goede communicatie tussen de hersencellen.

Globale aanpak vraagstelling: Om een brug te slaan tussen modellen van hersengebieden (in de gezonde en Parkinson-situatie) en de klinische effecten van diepe hersenstimulatie zijn metingen nodig van de directe en langdurige gevolgen van hersenstimulatie. We zullen veranderingen in activiteit van grote groepen neuronen meten met grids van elektrodes waarop plakjes van hersenen afkomstig van ratten worden geplaatst.

Lekensamenvattingen 2013

Kamer II

Hart/longen,

Immunologie & Infectie,

Vaten

Vergadering 16 januari 2013

Titel studie: The effect of CTGF knockdown in Aristolochic Acid induced toxic nephropathology

DEC nummer: 2013.II.01.001

Het effect van afwezigheid van Bindweefsel Groeifactor op de ontwikkeling van nierlittekens

Achtergrond: Eerder onderzoek heeft aangetoond dat een eiwit genaamd Bindweefsel Groeifactor of, in het Engels, Connective Tissue Growth Factor (CTGF) een zeer positief stimulerende werking heeft op nierverlittekening. Nierverlittekening is een proces dat optreedt bij vrijwel alle vormen van nierschade. Belangrijke oorzaken van nierschade zijn onder anderen Diabetes en/of een hoge bloeddruk. Om deze nier verlittekening te voorkomen zou verlaging van de hoeveelheid beschikbare CTGF eiwit een mooie behandeling vormen. Om dit te testen zijn in eerder onderzoek muizen gemaakt die niet langer in staat zijn om de volledige hoeveelheid CTGF aan te maken, maar slechts de helft. Deze muizen ontwikkelden echter na toediening van nierschade nog steeds evenveel verlittekening op de nier. Om nu te bepalen of dit komt omdat een halvering van CTGF niet genoeg is om de littekens te voorkomen, of omdat CTGF geen belangrijke factor is binnen deze verlittekening zijn nu muizen gemaakt die helemaal geen CTGF meer kunnen maken. Mochten deze muizen nog steeds littekens maken na toediening van nierschade, dan is CTGF dus niet belangrijk binnen dit proces.

Doel/hypothese: Het doel is om te bepalen welke invloed CTGF precies heeft binnen de vorming van nierlittekens. De hypothese is dat er in CTGF-loze muizen minder littekenvorming zal zijn dan in CTGF-normale muizen wanneer zij worden blootgesteld aan nierschade

Globale aanpak vraagstelling: Omdat nierschade en nier littekenvorming heel erg complexe processen zijn is het gebruik van proefdieren helaas onvermijdelijk. In dit onderzoek zal de centrale rol van CTGF binnen het ziekteproces bepaald worden. Ziekteprocessen zijn zeer complexe processen met veel verschillende spelers. Een aantal factoren welke (nog) niet na te bootsen zijn in bijvoorbeeld celkweek zijn onder anderen het immuunsysteem, de bloeddruk, de variëteit aan verschillende aanwezige celtypen en hun onderlinge interactie, de samenstelling van het circulerende bloed en de combinatie hier tussen. Met behulp van nierschade modellen zal de nier worden beschadigd, waarna de nier na verloop van tijd zal worden bestudeerd op de aanwezigheid van littekens in zowel de aan, als afwezigheid van CTGF.

Titel studie: RSV-infectie preventie model in katoenrat

DEC nummer: 2013.II.01.002

RSV-infectie model in katoenrat

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 in eerste instantie het opzetten van het RSV-infectie preventie model in de katoenrat. In tweede instantie zal de effectiviteit van een nasale toedieningsvorm (neusspray) van dit vaccin te vergelijken met het huidige vaccin dat maandelijks in het RSV-seizoen via injecties aan de kinderen uit de diverse risicogroepen wordt toegediend.
Globale aanpak vraagstelling: Door het gebruik van diermodellen kan het effect van een neusspray ten opzichte van de huidige gebruikte injecties vergeleken worden. De katoenratten zullen het vaccin via injectie 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. In een volgende studie zal dan de effectiviteit van neusspray vergeleken worden met die van de huidige injecties.

Titel studie: Effecten van oligosachariden in een huisstofmijt geïnduceerd muizen allergie model

DEC nummer: 2013.II.01.003

Effecten van specifieke suikers in een huisstofmijt geïnduceerd muizen allergie model
Achtergrond: Astma is een chronische ontstekingsziekte van de luchtwegen, die gekarakteriseerd wordt door veranderingen in het longweefsel. Patiënten met astma worden behandeld met corticosteroïden die zelf ook ernstige bijeffecten kunnen hebben. Prebiotica zijn specifieke suikers die een stimulerend effect hebben op de darmflora. Synbiotica is een combinatie van suikers en bacteriën. Studies hebben aangetoond dat het effect van deze suikers en suikers + bacteriën op de bacteriën in de darm een goede antiallergische reactie geeft. De laatste jaren is er overtuigend bewijs gevonden dat het type darmbacteriën dat de darmen bevolkt kan bijdragen aan het onderdrukken of juist induceren van ziekten. In eerdere publicaties is door ons aangetoond dat speciale diëten, die aan muizen werden gegeven, de allergische reacties kunnen onderdrukken. Dit heeft zich zelfs vertaald in een klinische toepassing bij baby's. Van oligosacharide (het voedsel voor de bacteriën) is bekend dat bepaalde bacteriën daar goed van groeien terwijl andere er juist minder goed van gaan groeien. Door het type oligosacharide zou de darmflora in positieve zin bevolkt kunnen worden en ziektebeelden zoals allergie kunnen onderdrukken.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het bestuderen van de mogelijke preventieve effecten van oligosa-

chariden op het ontwikkelen van allergische astma. Om zo dicht mogelijk de situatie in astmapatiënten na te boosten, maken we in deze studie gebruik van een huisstofmijt geïnduceerd astma muismodel.
Globale aanpak vraagstelling: Net zoals bij de mens zullen de proefdieren aan een lichaamsvreemde stof worden blootgesteld, in dit geval huisstofmijt. Proefdieren zijn hier 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: Dissecting molecular mechanism that determine the functional capacity of regulatory T-cells in vivo - the NLK kinase

DEC nummer: 2013.II.01.004

Een cellulaire mechanisme die de activiteit van regulatoire T cellen reguleert
Achtergrond: De sterkte van afweerreacties wordt door zogenaamde regulatoire T cellen gereguleerd. Door ons is ontdekt dat de activiteit van de regulatoire T cel zelf door modificatie van het FOXP3 eiwit beïnvloed wordt.
Doel/hypothese: De hypothese is dat signalen, die door een bepaalde cellulaire signaaltransductie route doorgegeven wordt, tot modificatie van FOXP3 leidt en daardoor de regulerende functie van regulatoire T cellen beïnvloedt.
Globale aanpak vraagstelling: In vitro is 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, wordt gebruik gemaakt 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. In deze proeven zullen regulatoire T cellen van genetisch gemodificeerde muizen gebruikt worden, welke bepaalde signaaltransductie routes niet meer kunnen gebruiken. Gekeken wordt dan in hoeverre deze regulatoire T cellen nog in staat zijn om colitis te verhinderen. Hiermee kan het inzicht in de regulatie van regulatoire T cel functie vergroot worden. Dit kan leiden tot nieuwe therapeutische mogelijkheden voor ziektes waarin regulatoire T cellen een ziekte-versterkende of -verminderende rol spelen. Aangezien afweerreacties heel complex zijn moeten dit soort "proof of principle" proeven in muizen uitgevoerd worden.

Titel studie: FOK Blackswiss cMyBP-C knock out muis (homozygoot) en cMyBP-C knock out x Blackswiss WT (heterozygoot)

DEC nummer: 2013.II.01.005

cMyBP-c knock out muizen ontwikkelen na 9 maanden een hypertrofe cardiomyopathie (HCM, verdikking van de hartspier) overeenkomend met de humane HCM. Daardoor zijn ze van grote waarde voor onderzoek naar deze afwijking. In de fok worden de dieren voor het bereiken van die leeftijd geëuthanaseerd waardoor het risico op ongerief gering is.

Titel studie: Arteriovenous grafting of tissue engineered blood vessel, compared to a conventional ePTFE graft

DEC nummer: 2013.II.01.006

Functionaliteit van een tissue engineered bloedvat na implantatie in de bloedbaan vergeleken met een conventionele synthetische graft

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 twee bloedvaten nodig. Helaas raakt die vaatverbinding vaak ernstig vernauwd, waardoor het niet meer goed bruikbaar is.

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 de 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: Het tissue engineered bloedvat wordt in de bloedbaan in de hals geplaatst. Daarbij wordt aan de ene kant in de hals het tissue engineered bloedvat geplaatst, en aan de andere kant de conventionele kunststof vaatprothese. Na 8 weken wordt gekeken welk vat beter werkt. Er is voor 8 weken gekozen, omdat bekend is dat op dat moment de helft van de kunststof vaten dicht zit. Als het tissue engineered bloedvat beter werkt, zou dat na 8 weken dus duidelijk moeten blijken. In een tweede onderdeel wordt het tissue engineered bloedvat 4 maanden lang in de bloedbaan geplaatst, om ook een beeld op de lange termijn te krijgen. Het is immers belangrijk om niet alleen te weten dát het tissue engineered bloedvat beter werkt dan een kunststof bloedvat, maar ook hoeveel langer het tissue engineered bloedvat dan werkzaam blijft.

Titel studie: Regulation of intestinal inflammation by CD200R signaling in the same intestinal flora background

DEC nummer: 2013.II.01.007

De invloed van de remmende eiwit CD200 op de regulatie van de darm ontstekingen

Achtergrond: Verschillende auto-immuunziektes, bijvoorbeeld Inflammatoire darmziekten (Inflammatory bowel disease IBD) worden veroorzaakt door ongecontroleerde ontstekingen. Daarom is het belangrijk om de immuunrespons 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 is voor deze controle

zijn immuun remmende receptoren zoals CD200R. In dit experiment zal onderzocht worden of 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 een week worden gevolgd. 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: Rol van connective tissue growth factor (CTGF) in encapsulerende peritoneale sclerose door TGF-beta adenovirus

DEC nummer: 2013.II.01.008

De rol van connective tissue growth factor (CTGF) bij verbindweefseling van het buikvlies
Achtergrond: Veel patiënten met nierfalen worden behandeld met buikdialyse (peritoneaal dialyse of PD). Buikdialyse leidt tot verbindweefseling (fibrose) en verharding (sclerose) van het buikvlies (peritoneum). Hierdoor raken de darmen afgesnoerd wat leidt tot klachten van overgeven, verstopping en gewichtsverlies. Er bestaat geen goed medicijn tegen deze zeer ernstige aandoening. Vaak moeten mensen met deze aandoening geopereerd worden en een aantal patiënten overlijdt. Bij het proces van verbindweefseling spelen verschillende eiwitten een rol. CTGF is een eiwit dat een rol speelt bij verbindweefseling in allerlei organen maar de exacte rol bij verbindweefseling van het buikvlies is niet bekend.
Doel/hypothese: Met dit onderzoek wordt onderzocht wat het effect is van CTGF bij het proces van verbindweefseling van het buikvlies. Onze hypothese is dat CTGF een essentiële factor is bij dit proces. Indien dit aangetoond kan worden dan zou dit een interessant aangrijpingspunt zijn voor de ontwikkeling van nieuwe medicijnen.
Globale aanpak vraagstelling: Dit onderzoek zal plaatsvinden in muizen waarbij het CTGF-gen uitgeschakeld kan worden. Hierdoor zullen de muizen minder CTGF maken. Door eenmalige toediening in de buikholte van een adenovirale vector die langdurig TGFb tot expressie brengt wordt het proces van verbindweefseling en verharding van het buikvlies geïnduceerd. Verwacht wordt dat bij muizen waarin het CTGF-gen is uitgeschakeld minder verbindweefseling optreedt vergeleken met muizen waarbij het CTGF-gen niet is uitgeschakeld. Het is noodzakelijk om voor deze experimenten proefdieren te gebruiken, omdat het proces van EPS niet nagebootst kan worden in celkweken.

Vergadering 21 februari 2013

Titel studie: Pilot studie: in ovo vaccinatie tegen Campylobacter met het NHC vaccin

DEC nummer: 2013.II.02.009

Bestrijding van Campylobacter bij vleeskuikens door vaccinatie

Achtergrond: Jaarlijks lopen in Nederland (en wereldwijd) veel mensen (80.000 in Nederland) 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: Het doel van dit onderzoek is het kandidaat-vaccin te testen in kippen: de gastheer van Campylobacter waarin het vaccin uiteindelijk gebruikt zou gaan worden. De verwachting is dat het vaccin een vermindering van Campylobacter-positieve dieren oplevert.

Globale aanpak vraagstelling: De eieren met kuiken worden 18 dagen bebroed en (3 dagen voor uitkomst) gevaccineerd door de eischaal. Na uitkomst van de eieren (21 dagen) worden de kuikens in groepen gehuisvest en op leeftijd van 12 dagen en 18 dagen wordt bloed afgenomen van de dieren. 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 cloaca. De dieren worden op 18 dagen besmet met Campylobacter door 0,5 ml vloeistof met Campylobacter via de snavel te geven. De dieren ondervinden hiervan geen nadelige gevolgen. Na 25 dagen worden de dieren geëuthanaseerd en wordt het aantal Campylobacter bacteriën in de darm bepaald (maat voor effectiviteit van vaccinatie). Tevens worden bloedmonsters en darmslijm verzameld. De bloedmonsters en slijm 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 kandidaat-vaccin daadwerkelijk werkt in kippen kan alleen met kippen worden getest.

Titel studie: Een nieuwe B cell reporter in zebravissen

DEC nummer: 2013.II.02.010

Hoe spelen B lymphocyten een rol in het tot stand komen van een gezonde darm en darmflora?

Achtergrond: Zebravissen worden steeds vaker gebruikt als model voor immuunziekten zoals IBD (chronische darmontsteking) en bacteriële infecties. In de eerste vier

weken heeft de zebravis alleen innate (aangeboren) immuniteit. Dit aangeboren immuunsysteem reageert snel en niet-specifiek op infecties of bacteriën. Vanaf vier weken wordt de adaptieve immuniteit (zoals T en B lymphocyten) ontwikkeld. Deze cellen kunnen specifiek ziekteverwekkers herkennen; dit zijn de cellen die met vaccinaties worden aangezet. In muizen en mensen zijn het aangeboren en adaptieve immuunsysteem beiden al bij de geboorte aanwezig en is het heel moeilijk om het onderscheid te maken tussen de processen die met name door aangeboren immuniteit gereguleerd worden en processen die met name gereguleerd worden door adaptieve immuniteit. Met behulp van de zebravis kunnen we deze twee armen van het immuunsysteem afzonderlijk bekijken. Alhoewel er al wel een transgene T lymphocyt reporter is gegenereerd om specifiek naar de T lymphocyten te kijken (alle T cellen hebben dan een flourescent groene kleur) in de zebravis, bestaat er nog geen B lymfocyt reporter. In deze studie wordt een B lymphocyt reporter gemaakt, zodat onderzoekers meer te weten kunnen komen over deze cellen van het adaptieve immuunsysteem in vissen en zien welke processen er geconserveerd (hetzelfde) zijn tussen zebravis en hogere orde vertebraten (zoals muis/mens).
Doel/hypothese: Het genereren van een B lymfocyt reporter zebravis om meer te leren over deze cellen van het adaptieve immuunsysteem van vissen.
Globale aanpak vraagstelling: Zebravissen zullen zo gemodificeerd worden dat alle B cellen een fluorescente kleur krijgen. Hiervoor wordt een stuk DNA gebruikt dat na injecteren in bevruchte eitjes van zebravissen ervoor zorgt dat alleen in B cellen van de vissen die uit dit eitje groeien een fluorescent rood kleurtje wordt gemaakt. Hiermee worden deze cellen dus zichtbaar gemaakt in de vis en kan na enige tijd gekeken worden naar de ontwikkeling van deze cellen. In de vroege stadia kan door de vis heen gekeken worden onder de microscoop. De vis hoeft hiervoor alleen maar verdoofd te worden. Op latere tijdstippen is het niet meer mogelijk door de vis heen te kijken en worden de vissen op verschillende tijdstippen geëuthanaseerd om te ontdekken waar (in welke organen) de cellen zich bevinden. Voor dit onderzoek worden zebrabissen gebruikt omdat dit onderzoek niet kan worden uitgevoerd in muizen of mensen. In muizen en mensen zijn namelijk alle cellen van het adaptieve immuunsysteem al aanwezig bij de geboorte. We kunnen de langzame ontwikkeling daar dus niet volgen. In zebravissen is er een periode van 3 tot 4 weken waarin alleen het aangeboren immuunsysteem actief zou zijn (hier verwachten we dan dus ook geen rode cellen). Daarna ontwikkelen de T en B cellen zich en kunnen de veranderingen die er dan optreden in de darm (maar ook andere organen) van de vissen gezien worden. Dit is belangrijk omdat deze B cellen wellicht een rol spelen bij het verkrijgen van een gezonde darmflora. Door uit te zoeken hoe dit werkt kan misschien dysbiose (verstoring) van de darmflora voorkomen worden. Die verstoring van de darmflora kan namelijk leiden tot ziekten zoals chronische darmontsteking, suikerziekte of ernstig overgewicht.

Titel studie: Reductie van Campylobacter in vleeskuikems door aminozuur afname

DEC nummer: 2013.II.02.011

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 voor als een onschuldige bacterie, 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 gemetaboliseerd. 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 zien of het mogelijk is om de hoeveelheid C.jejuni bacteriën in kippen te verlagen door de aminozuur samenstelling van 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. Door voer aan kippen te geven waar alle essentiële nutriënten in zitten voor de kip maar niet voor Campylobacter is de verwachting een sterke reductie te zien van de aantallen campylobacter in de kip. In dit experiment krijgen kippen die hoge aantallen campylobacter bezitten gedurende een week het speciaal kippenvoer. De aantallen Campylobacter bacteriën in de kippen wordt gevolgd door gedurende de week telkens een aantal kippen te euthanaseren waarna de darminhoud kan worden bemonsterd op het voorkomen van Campylobacter.

Titel studie: Toll-like receptor 9-antagonisten als mogelijke therapie voor COPD

DEC nummer: 2013.II.02.012

De bestudering van de rol van Toll-like receptor 9 op het ontstaan en de ontwikkeling van de longziekte COPD door deze receptor te blokkeren

Achtergrond: “Chronic obstructive pulmonary disease” (COPD) is een ernstige longziekte welke naar schatting

de derde doodsoorzaak wereldwijd zal zijn in 2020. De ziekte wordt gekenmerkt door chronische luchtwegontstekingen, vermindering van longfunctie en afbraak van de longweefsel structuur (longemfyseem). Een mogelijk aangrijpingspunt voor medicijnontwikkeling voor deze chronische ontstekingsziekte zijn “Toll like receptoren” (TLRs), structuren die zich bevinden op cellen van het immuunsysteem. TLRs reageren op “lichaamsvreemde” componenten waaronder microbiële componenten die in grote mate aanwezig zijn in sigarettenrook, een sterke risicofactor voor het ontstaan van COPD. In deze studie willen we toetsen of TLR9 betrokken is bij het ontstaan en de ontwikkeling van COPD. Binnen onze afdeling is een muismodel voor COPD ontwikkeld. In dit model worden muizen blootgesteld aan rook waarna de symptomen die ook in COPD gevonden worden, zichtbaar zijn: ontstekingen in de longen, productie van stoffen die bij ontstekingen vrijkomen, structuurveranderingen in de longen en gewichtsverlies. Wanneer hierin de muizen worden behandeld met stoffen die de TLR9-receptor blokkeren, kunnen we de invloed van TLR9 op het ontstaan en de ontwikkeling van COPD bestuderen. De verwachting is dat in de dieren die blootgesteld zijn aan sigarettenrook de TLR9 antagonisten een dosis afhankelijke remmende werking hebben op de luchtwegontstekingen en het ontstaan van longemfyseem. De effecten van deze blokkers zullen hierin tevens vergeleken worden met een in de kliniek veel gebruikt referentiemedicijn: budesonide.

Doel/hypothese: Het doel is te onderzoeken of TLR9 een regelende rol speelt bij het ontstaan van luchtwegontstekingen en longemfyseem door toedoen van sigarettenrook. Dit door gebruik te maken van TLR9-antagonisten, stoffen die de werking van de TLR9 receptor blokkeren. Hypothese: Wanneer de receptor TLR9 geblokkeerd is door de TLR9-antagonist, zal er sterke (dosis afhankelijke) remming van de ontstekingsrespons zijn. Hierdoor zullen de toestromen van ontstekingscellen naar de longen alsmede het ontstaan van longemfyseem afnemen. De longfunctie zal verbeteren.

Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden gedurende drie weken blootgesteld aan sigarettenrook of standaard lucht. Gedurende deze blootstellingsdagen zullen budesonide of TLR9-remmers (in de luchtwegen) worden toegediend om de eventuele beschermende werking vast te kunnen stellen. Tijdens deze periode zal het lichaamsgewicht wordt genoteerd en de longfunctie van vrij bewegende muizen worden gemeten. Nadat de muizen zijn gedood 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, kunnen de effecten van TLR9 remmers en de vergelijking met een referentie-medicijn budesonide in COPD niet anders bestudeerd worden dan in het intacte dier.

Titel studie: Determine which mouse model and which treatment schedule is most suitable to study immunogenicity of different types of human interferon beta products

DEC nummer: 2013.II.02.013

Bepalen van een goed muismodel om immunogeniciteit van interferon beta medicijnen te bestuderen
Achtergrond: Immunogeniciteit van eiwitmedicijnen zoals interferon beta is een groot nadeel. Dit type medicijnen veroorzaken een afweerreactie in patiënten, wat kan leiden tot falende behandeling en verschillende bijwerkingen. Ongeveer 60% van de patiënten behandeld met het eiwitmedicijn interferon beta krijgt zo'n afweerreactie. In dit onderzoek zal onderzocht worden waarom een afweerreactie ontstaat door gebruik van deze medicijnen. Klontjes in de medicijnen, of de (structuur van) eiwitten zelf zouden een oorzaak kunnen zijn. Om dit goed te kunnen bepalen is er een goed muismodel nodig waarbij de afweerreactie tegen verschillende varianten van interferon beta bestudeerd kan worden. Op dit moment zijn drie muismodellen beschikbaar die in dit onderzoek op een gestructureerde manier getest zullen worden op geschiktheid voor toekomstige studies met interferon beta.
Doel/hypothese: Bepalen welk van de drie aanwezige muismodellen geschikt is om de afweerreactie tegen verschillende interferon beta middelen te testen.
Globale aanpak vraagstelling: De drie aanwezige muismodellen krijgen elk verschillende interferon beta middelen die verschillen in hoeveelheid aanwezige klontjes, eiwitstructuur, en oplossing. De middelen worden toegediend in de buikholte gedurende drie weken. Bloed wordt afgenomen voor en tijdens de behandelingsweken en getest op een eventuele afweerreactie.

Titel studie: Verkrijgen van erytrocyten van kippen voor uitvoering van hemagglutinatie testen

DEC nummer: 2013.II.02.014

Verkrijgen van rode bloedcellen van kippen voor uitvoering van hemagglutinatie testen
Achtergrond: Vaccinatie is één van de meest efficiënte en kosteneffectieve maatregelen ter bescherming van pluimvee tegen een infectie van influenza. Bescherming is voornamelijk gebaseerd op antistoffen opgewekt tegen de oppervlakeiwitten van het virus. Eén van deze eiwitten heeft als eigenschap om rode bloedcellen te laten samenklonteren (hemagglutinatie). Deze samenklontering van rode bloedcellen kan geremd worden door antistoffen, opgewekt na vaccinatie tegen influenza, en zichtbaar gemaakt worden door een diagnostische test. De kwaliteit van de immuunrespons na vaccinatie kan worden gemeten door de mate van remming van de antistoffen op de samenklontering van rode bloedcellen.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om de kwaliteit van de antilichaam response na vaccinatie te bepalen.
Globale aanpak vraagstelling: Om de antilichaamrespons na vaccinatie te meten wordt er gebruik gemaakt van de hemagglutinatie test. Hiervoor zijn rode bloedcellen nodig. Om rode bloedcellen te verkrijgen wordt er bij levende kippen enkele ml bloed getapt.

Titel studie: Extending the IgA half-life in vivo by different types of modifications

DEC nummer: 2013.II.02.015

Verlening 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 het 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 of IgA te verlengen.
Globale aanpak vraagstelling: Verschillende type IgA antistoffen zullen aan muizen worden toegediend. Na verschillende tijdspunten wordt bloed afgenomen om in het lab de concentratie antistof in het bloed te bepalen (met de hulp van een laboratoriumtest).

Titel studie: The kinetics of Mac-1 dependent pathology in influenza infection

DEC nummer: 2013.II.02.016

Het verloop van de immuunrespons op influenza infectie in de tijd
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.
Daarnaast is aangetoond dat dit eiwit vooral van belang is op een speciaal soort witte bloedcel: de neutrofiel. In een van deze experimenten is na afloop van het experiment een aantal verschillen gemeten tussen normale en MAC-1 deficiënte dieren: de hoeveelheid virus in de longen, de hoeveelheid witte bloedcellen in verschillende organen (longen, milt) en de activatie status van deze cellen.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is uitzoeken: 1) hoe de verschillen tussen normale en MAC-1 deficiente dieren zich ontwikkelen over de tijd en 2) of deze verschillen te wijten zijn aan MAC-1 op neutrofielen.
Globale aanpak vraagstelling: Het is helaas niet mogelijk om deze studie in mensen of in computermodellen uit te voeren. Mensen die het eiwit MAC-1 niet hebben zijn erg zeldzaam. Daarnaast is het niet verantwoord om deze mensen te infecteren met een ziekte, waarvan we verwachten dat ze er ernstig ziek van worden. Daarnaast doen wij onderzoek naar de milt en de longen. Het is niet zomaar mogelijk om deze organen van gezonde mensen te gebruiken. Tot slot is het gebruik van computermodellen is niet mogelijk omdat er te weinig bekend

is over de processen waar wij onderzoek naar doen. De globale aanpak van de vraagstelling is als volgt: Allereerst zal onderzocht worden hoe de immuunreactie van normale en MAC-1 deficiënte muizen verschilt. Hiervoor worden groepen van deze twee soorten muizen geïnfecteerd met influenza. Op verschillende dagen zullen de dieren gedood worden om metingen te doen in de organen (milt en longen). Om te bewijzen dat deze verschillen te wijzen zijn aan het gebrek aan MAC-1 op de neutrofielen van de MAC-1 deficiënte muizen, wordt een adoptive transfer experiment gedaan.
Hierbij worden in twee groepen MAC-1 deficiënte muizen neutrofielen ingespoten. De eerste groep krijgt MAC-1 deficiënte cellen. Hierin wordt verwacht exact hetzelfde te zien als in de MAC-1 deficiënte dieren zonder ingespoten cellen. De tweede groep krijgt echter normale cellen ingespoten. Van deze groep is al bekend dat ze minder ziek wordt, dankzij deze cellen. Als in deze groep een van de metingen overeenkomt met de metingen in de groep normale muizen, dan blijkt hieruit dat dit te wijten is aan de neutrofielen en dat dit waarschijnlijk belangrijk is in het ziekteproces na influenza infectie.

Titel studie: The effect of neutrophil Mac-1 on in vivo T-cell proliferation

DEC nummer: 2013.II.02.017

De rol van het eiwit Mac-1 in het remmen van het immuunsysteem
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. Eerder zijn experimenten uitgevoerd met witte bloedcellen van griep-geïnfecteerde muizen in een reageerbuis (in vitro). Deze experimenten wijzen erop dat het voorkomen van activatie en groei van een bepaald type witte bloedcellen (T-cellen) een manier is om ziekte te voorkomen. De omstandigheden in een reageerbuis zijn echter heel anders dan die in een levend wezen, vandaar dat de experimenten ook in een levend dier uitgevoerd dienen te worden.
Doel/hypothese: Speelt het eiwit Mac-1 een rol in het remmen van T-cel groei in levende dieren?
Globale aanpak vraagstelling: Om de groei van T-cellen goed te kunnen meten is gekozen voor een veel gebruikt model. Hierin worden muizen gebruikt die alleen een immuunreactie kunnen vertonen tegen kippen-ei-eiwit (OVA). Deze cellen worden gelabeld en ingespoten in normale muizen of in muizen zonder het eiwit Mac-1. Vervolgens worden deze muizen ingespoten met het kippen-eiwit, waarop de T-cellen reageren door zichzelf te delen en te vermeerderen. Bij elke deling neemt de hoeveelheid label in de twee nieuwe cellen af, daardoor kan na een aantal dagen van iedere cel worden gemeten of en hoeveel ze hebben gedeeld. Verwacht wordt dat de muizen zonder Mac-1 de delingen niet kunnen remmen en de cellen dus vaker hebben gedeeld.

Titel studie: Pilot studie naar het effect van immuunsuppressivum MFF op T-celdelingDEC nummer: 2013.II.02.018

Remt het afweer onderdrukkend medicijn MMF alle deling van afweercellen?

Achtergrond: Een afweer onderdrukkend medicijn (MMF) wordt veel gegeven aan patiënten na een transplantatie van bijvoorbeeld een nier. Dit medicijn zou de deling van afweercellen moeten remmen. In losse cellen in het laboratorium is gezien dat de cellen helemaal geremd worden. De vraag is of dit in muizen ook zo is. Zo wordt inzicht verkregen over hoe afweercellen zich gedragen, niet alleen in transplantatiepatiënten maar ook in allerlei andere ziekten.

Doel/hypothese: Op kleine schaal (pilot studie) kijken of MMF (een afweer onderdrukkend medicijn) de deling van afweercellen volledig plat legt.

Globale aanpak vraagstelling: Het immuunsysteem is heel erg ingewikkeld; het bestaat uit meerdere verschillende organen en factoren die samenwerken (primaire lymphoide organen - thymus en beenmerg, secundaire lymphoide organen - o.a. milt en lymfeknopen). Dit ingewikkelde systeem is onmogelijk buiten een levend organisme na te bootsten of te bestuderen. Het gedrag van de afweercellen zal bestudeerd en vergeleken worden tussen muizen met het medicijn MMF en zonder het medicijn MMF op twee manieren. Methode 1) door afweercellen van een muis te markeren (met de kleurstof CellTrace die wordt verdund bij elke celdeling) en overbrengen naar andere muizen zodat we ze kunnen volgen. Methode 2) door zwaar water te geven aan de muizen wat bij een nieuwe cel ingebouwd wordt in het DNA.

Titel studie: The function of MicroRNA-132 in angiogenesis after myocardial infarction

DEC nummer: 2013.II.02.019

De functie van microRNA-X in vorming van nieuwe bloedvaten na hartinfarct

Achtergrond: Na een hartinfarct probeert het lichaam beschadigd weefsel te herstellen. Daarnaast worden ook nieuwe bloedvaten gevormd. Dit is echter een inefficient proces en het lichaam is niet in staat om de schade volledig te herstellen waardoor de functie van het hart steeds verder achteruit gaat.

Verschillende strategieën zijn geprobeerd om bloedvatvorming te verbeteren na een hartinfarct, maar tot op heden is er nog geen therapie beschikbaar. MicroRNAs, kleine RNA moleculen, zijn in staat om gelijktijdig verschillende genen te beïnvloeden, waaronder ook bloedvatvorming. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat microRNA-X betrokken is bij de bloedvatvorming en vermindering van dit microRNA verslechterd de vorming van nieuwe bloedvaten.

Doel/hypothese: MicroRNA-X blijkt een rol te spelen in de bloedvatvorming. Zowel verhoging als vermindering van dit micro-RNA-X heeft effect op vorming van nieuwe bloedvaten. Daarom wordt onderzocht wat het effect is van microRNA-X op de bloedvatvorming na hartinfarct en of het mogelijk als therapie kan worden gebruikt om herstel te bevorderen.

Globale aanpak vraagstelling: Het onderzoek zal plaatsvinden met muizen die geen microRNA-X-gen in hun genoom hebben, waardoor microRNA-X niet aanwezig is in het lichaam. De functie van microRNA-X op de bloedvatvorming wordt onderzocht door een hartinfarct te induceren bij de muizen. Verwacht wordt dat er een verschil is in hartfunctie en het herstel tussen normale muizen en de genetische gemodificeerde muizen.
Eerder onderzoek met behulp van kweekmodellen in het laboratorium liet zien dat micro-RNA-X betrokken is in verschillende processen van bloedvatvorming. Er zijn echter geen alternatieven om bloedvatvorming na een hartinfarct te kunnen onderzoeken dan door middel van proefdieren.

Titel studie: Delivery of microRNA/antimiR to the cardiovacular system by targeted vectors

DEC nummer: 2013.II.02.020

MicroRNAs in specifieke cellen van het hart brengen door middel van vehikels
Achtergrond: MicroRNAs, kleine RNA moleculen, zijn in staat om gelijktijdig verschillende genen te beïnvloeden, waaronder ook genen betrokken bij bloedvatvorming. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat microRNA-X betrokken is bij de bloedvatvorming en vermindering van dit microRNA verslechterd de vorming van nieuwe bloedvaten. MicroRNAs hebben de potentie om een nieuwe therapie te worden voor bijvoorbeeld hart- en vaatziekten. Echter is gebleken microRNAs in bepaalde cellen een schadelijke werking hebben. Daarom is het nodig een vehikel te ontwikkelen die specifiek is voor een bepaalde cel en de microRNA in deze cellen kan brengen. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat dit mogelijk is door middel van verschillende vehikels.
Doel/hypothese: Om microRNAs specifiek naar het hart te brengen zullen verschillende vehikels onderzocht worden op hun toepasbaarheid. MicroRNAs zijn heel potent in het reguleren van cel processen en met behulp van specifieke vehikels kan per cel bepaald worden of men een proces wil veranderen door middel van microRNAs.
Globale aanpak vraagstelling: Onderzocht wordt hoe het microRNA-X specifiek in bepaalde cellen van het hart gebracht kunnen worden door middel van een vehikel. Het onderzoek zal plaatsvinden met muizen die geen microRNA-X-gen in hun genoom hebben, waardoor microRNA-X niet aanwezig is in het lichaam. Hierdoor kan heel specifiek onderzocht worden of vehikels effectief dit microRNA in de cel kunnen brengen omdat het normaal niet aanwezig is. Eerder onderzoek met behulp van kweekmodellen heeft laten zien dat onderzoekers microRNAs met behulp van vehikels in cellen kunnen krijgen. Om te kunnen onderzoeken of deze vehikels specifiek naar het hart gaan is het noodzakelijk om proefdieren te gebruiken omdat hiervoor geen alternatieven beschikbaar zijn.

Titel studie: Ontwikkeling en evaluatie van een model bij vleeskuikens voor het onderzoeken van een in ovo immunomodulatie met dier-specifieke antimicrobiële en immunomodulerende peptiden

DEC nummer: 2013.II.02.021

Preventieve behandeling met kleine eiwitten die zijn afgeleid van natuurlijke componenten van het aangeboren immuunsysteem van de kip in combinatie met bestanddelen van de E. coli bacterie ter voorkoming en/of vermindering van etterige ontstekingen bij vleeskuikens ten gevolge van die E. coli bacterie

Achtergrond: Deze bacterie (E. coli) is een van de belangrijkste ziekteverwekkers bij vleeskuikens. Vleeskuikens worden bij besmetting met deze bacterie ernstig ziek en een deel van de vleeskuikens sterft. Vleeskuikens worden bij ziekte behandeld met antibiotica. Omdat de werkzaamheid van antibiotica, door het vele en foutieve gebruik in de pluimveesector, vermindert en dit ook kan leiden tot verminderde werkzaamheid van antibiotica in de humane sector, wordt gezocht naar alternatieven voor de behandeling met antibiotica. In dit experiment worden afweereiwitten (peptiden) gecombineerd met stukjes erfelijk materiaal (DNA) van de ziekteverwekkende E. coli bacterie. Deze eiwitten (peptiden) zijn gekozen omdat ze ervoor zorgen dat de kuikens vanaf het moment van uitkomst uit het ei tegen een aantal ziekteverwerkers beschermd worden.

Doel/hypothese: Behandeling van kuikens met afweereiwitten (peptiden) in combinatie met stukjes erfelijk materiaal (DNA) van de E. coli bacterie voorkomt/vermindert etterige ontstekingen bij vleeskuikens door deze bacterie.

Globale aanpak vraagstelling: Voor dit experiment worden kuikens ofwel nog in het ei ofwel op de dag van uitkomst uit het ei op verschillende manieren behandeld met een afweereiwit en /of een stukje erfelijk materiaal van de E. coli bacterie of met een controle oplossing. Op 4 dagen leeftijd wordt de behandeling in twee van de acht groepen herhaald. Op de 7de levensdag worden de kuikens uit de testgroepen geïnfecteerd met een ziekteverwekkende E. coli bacterie of met een controleoplossing. Twee of zeven dagen naar de infectie worden de kuikens gedood. Materiaal en bloed wordt verzameld en geanalyseerd.

Titel studie: Determining the kinetics of transport of recombinant IgA antibodies from the bloodstream to the lungs in mice

DEC nummer: 2013.II.02.022

Vergelijking van de transport van zelfgemaakte antistoffen naar de longen in muizen

Achtergrond: Antistoftherapie is een nieuwe behandelingsmethode voor o.a. kankerpatiënten en patiënten met infectieziekten. Er bestaan vijf 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. Dit onderzoek richt zich op 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 zullen samengestelde IgA antistoffen onderzocht worden voor therapeutisch gebruik. Eerst wordt gekeken of de geproduceerde IgA antistoffen ook echt bij de slijmvliezen terecht komen en hoe dit transport kunnen verhoogt kan worden.
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, wordt verwacht een hogere concentratie van IgA, vergeleken met IgG, terug te vinden bij de slijmvliezen.
Globale aanpak vraagstelling: Verschillende typen IgA en IgG antistoffen zullen aan muizen worden toegediend. Op verschillende tijdspunten zal bloed en longvloeistof gecollecteerd worden om de concentratie van antistof in deze monsters te bepalen.

Titel studie: The role of bacterial and chemical components in cigarette smoke: implications for COPD

DEC nummer: 2013.II.02.023

Bacteriële en chemische samenstelling van sigarettenrook: implicaties voor COPD
Achtergrond: COPD (chronic obstructive pulmonary disease), een chronische longziekte, wordt gekarakteriseerd door een abnormaal ontstekingsproces dat een progressieve toename van luchtweg obstructie teweeg brengt met als gevolg een verminderde longfunctie. Verwacht wordt dat COPD in 2020 de 3e doodsoorzaak wereldwijd zal zijn. Tot nu toe is er geen specifieke behandeling beschikbaar voor deze ziekte omdat de achterliggende oorzaken veelal onbekend zijn. Sigarettenrook is in westerse landen de meest bekende risicofactor. Sigarettenrook is een complex mengsel en bevat meer dan 20.000 chemische componenten waaronder zware metalen. Wat veel mensen niet weten is dat tabak ook bacteriën bevat. Bepaalde bacteriële producten blijven achter in sigarettenrook. Van een van deze producten (LPS, wat een bacterieel celwand component is) is al bekend dat het bijdraagt aan de ontwikkeling van COPD. Wij verwachten dat bacterieel DNA ook een belangrijke rol speelt bij de ontwikkeling van COPD en dat dit tevens achterblijft in rook. Vanuit studies met patiënten blijkt steeds vaker dat de longen niet steriel zijn. Met name in COPD patiënten is een verstoorde samenstelling van de bacteriën in de luchtwegen een belangrijke factor in de ziekte.
Doel/hypothese: Het is vooralsnog niet bekend wat de effecten zijn van rookblootstelling op depositie van bacteriën/bacteriële producten in de luchtwegen. Ook is nog niet bekend of er als gevolg van rookblootstelling veranderingen te vinden zijn in het longmicrobioom. Onze hypothese is dat bacteriële producten zoals bacterieel DNA aanwezig zijn in sigarettenrook en dat dit bijdraagt aan de ontwikkeling van COPD. Wij willen in deze studie onderzoeken wat het effect is van rookblootstelling op depositie van bacteriële producten in de

luchtwegen. Tevens willen we onderzoeken of er veranderingen optreden in de bacteriële samenstelling van de luchtwegen (longmicrobioom) als gevolg van sigarettenrook blootstelling. We zijn geïnteresseerd in de effecten van main stream rook (dat wat de roker inhaleert) en side stream rook (meerokerseffect). Het uiteindelijk doel van het project is om inzicht te krijgen in bacteriële samenstelling van rook in relatie tot effecten in de luchtwegen. Inzicht in dit mechanisme kan bijdragen een de ontwikkeling van nieuwe effectieve therapieën en bewustwording onder (mee)rokers.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden drie weken lang, blootgesteld aan sigarettenrook of standaard lucht via een whole body box (=blootstellingskamer). Drie soorten van rookgeneratie worden met elkaar vergeleken. 1: sidestream rook (meerokerseffect), 2: mainstream rook gegenereerd met onze eigen opstelling en 3: ISO standaard mainstream rook (=gouden standaard voor de rook die door mensen geïnhaleerd wordt). Ook zullen er verschillende soorten sigaretten met elkaar vergeleken worden. 1: referentie sigaretten, 2: sigaretten met een hoger waarde aan bacteriën/bacteriële producten en 3:sigaretten met een hoge waarde aan zware metalen. Tijdens de sectie wordt bloed afgenomen en worden de longen gespoeld voor bepaling van luchtwegontsteking. Longweefsel en longcellen worden onderzocht op veranderingen van het longmicrobioom. Er zal tevens gekeken worden naar depositie van bacterieel DNA en van zware metalen in de longen. Andere immunologisch relevante organen worden uitgenomen en bewaard voor onderzoek. Aangezien ontstekingen en verandering van microbioom resultaat zijn van veel processen in het lichaam, waarbij cellen, weefsels en systemen betrokken zijn, kunnen de effecten van rooksamenstelling in relatie tot COPD niet anders bestudeerd worden dan in het intacte dier.

Vergadering 20 maart 2013

Titel studie: Instandhouden Dictyocaulus viviparus (longworm) stam

DEC nummer: 2013.II.03.025

Instandhouden Dictyocaulus viviparus (longworm) stam
Achtergrond: Voor experimenteel werk met parasieten, in dit geval nematoden (rondwormen), is een levende stam van infectieuze larven nodig. Deze larven hebben niet het eeuwige leven en dienen dus van tijd tot tijd te worden gepasseerd door de natuurlijke gastheer om een volgende generatie te verkrijgen. De frequentie is enigszins afhankelijk van de wormsoort. In deze studie gaat het om de runder-longworm Dictyocaulus viviparus. Voor deze soort is een halfjaarlijkse passage nodig om een levensvatbare stam in stand te kunnen houden. Hierdoor wordt de mogelijkheid behouden om onderzoek te doen naar parasiet-gastheer interacties.
Doel/hypothese: Instandhouden van een levensvatbare en infectieve stam van de runder longworm Dictyocaulus viviparus.
Globale aanpak vraagstelling: Een donorkalf wordt geïnfecteerd met infectieve larven, in zulke aantallen dat er geen ziekte door ontstaat. Nadat de larven volwassen zijn geworden, gaan ze eieren produceren. Deze eieren komen na ophoesten en inslikken terecht in het maag-darmkanaal waar ze larven worden. Deze larven worden uitgescheiden in de mest. Gedurende een periode van enkele weken wordt die mest verzameld om zo aan een nieuwe generatie longwormlarven te komen. De gehele procedure vergt maximaal 2 maanden, waarbij twee kalveren worden gebruikt. Twee kalveren zijn nodig om zeker te stellen dat voldoende larven verkregen worden.

Titel studie: Fok alpha-MHC calcineurin (GG2580)

DEC nummer: 2013.II.03.026

Toegenomen belasting van het hart leidt tot remodelering. Deze remodelering bestaat uit veranderingen in drie processen, te weten contractiel, structureel en elektrisch. Alhoewel deze aanpassingen initieel een adaptief karakter hebben, kunnen deze contractiele en structurele aanpassingen uiteindelijk mogelijk tot hartfalen leiden. De elektrische veranderingen echter leiden al vanaf de eerste stadia van aanpassing tot een verhoogde kans op hartritmestoornissen. Ongeveer de helft van de mortaliteit van patiënten met hartfalen wordt veroorzaakt door plotselinge dood als gevolg van een hartritmestoornis, zelfs in vroege stadia van hartfalen. De moleculaire en cellulaire basis voor ventriculaire aritmogene remodelering bij hartfalen is een van de belangrijkste thema's binnen de afdeling Medische Fysiologie. Eerder onderzoek heeft uitgewezen dat in hartfalen het eiwit calcineurine tot overexpressie wordt gebracht. Deze overexpressie leidt tot zowel structurele en elektrische remodelering en plotselinge hartdood (Molkentin et al., Cell 1998; Bierhuizen et al., JMCC 2008). De muis in deze fok heeft een hartspecifieke overexpressie van calcineurine.

Daarom willen wij onderzoek doen met deze muis, om beter inzicht te krijgen in de onderliggende mechanismen van de structurele en elektrische remodelering.

Titel studie: De rol van CD200 ligand in perfusieherstel

DEC nummer: 2013.II.03.027

De rol van CD200 ligand tijdens vaatgroei en weefseldoorbloeding
Achtergrond: Collaterale vaatgroei (ook wel arteriogenese genoemd) is een natuurlijk proces in het lichaam waarbij bestaande niet-functionele vaten zich ontwikkelen tot functionele vaten om in het geval van slechte weefseldoorbloeding het weefsel te redden door de bloedtoevoer te herstellen (natuurlijke bypass). Verschillende factoren die betrokken zijn bij dit proces zijn al bekend, maar therapieën ontwikkeld vanuit deze stoffen hebben nog niet het gewenste resultaat opgeleverd. Het ontdekken van nieuwe factoren betrokken bij dit proces en verdere ontwikkelingen van nieuwe therapieën zijn zeer van belang voor deze groep patiënten. De rol van het eiwit CD200 ligand kan in dit proces bijdragen.
Doel/hypothese: Het onderzoeken van de rol van CD200 ligand in het proces van collateraalvorming en weefseldoorbloeding.
Globale aanpak vraagstelling: Binnen dit onderzoek maken wij gebruik van een muismodel waarin we het proces van vaatgroei kunnen stimuleren. In muizen die het eiwit CD200 ligand missen en in muizen die het nog wel hebben (controle groep) wordt in de rechterpoot de beenslagader afgebonden, waardoor de muis zelf de niet-functionele bloedvaten gaan ontwikkelen om de weefseldoorbloeding te herstellen. Door dit ook in controle muizen te doen en voor beide groepen het herstel bij te houden d.m.v. van laser-doppler (een techniek om doorbloeding van weefsel te meten) kunnen we onderzoeken wat het effect is van het CD200 ligand eiwit op vaatvorming en weefseldoorbloeding. Muizen zijn de enige diersoort, waarin het mogelijk is om een bepaald eiwit uit te schakelen, om zo het effect van dit eiwit te testen. Bovendien zijn muizen kleine dieren en is deze operatie eenvoudig toe te passen.

Titel studie: The role of complement activation during myocardial ischemia/reperfusion injury - activation of circulating leukocytes following I/R injury

DEC nummer: 2013.II.03.028

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 com-

plementfactor 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: Diabetes & heart failure with preserved ejection fraction

DEC nummer: 2013.II.03.029

Diabetes en hart falen
Achtergrond: Diabetes of suikerziekte is een ziekte waarvan steeds meer mensen last hebben in Europa, USA en Azië. Het is bekend dat wanneer je diabetes hebt je een groter risico hebt op een hartaanval of herseninfarct. Echter het blijkt dat bij mensen die hartfalen hebben, waarbij het hart dus niet meer goed pompt, ook veel meer diabetes voorkomt. Hartfalen kan ontstaan na een hartaanval maar is in ongeveer 50% van de gevallen ook het gevolg van hoge bloeddruk. Deze laatste groep (Heart failure with preserved ejection fraction of HFPEF) wordt pas recentelijk goed bestudeerd en heeft nog steeds geen bewezen goede therapie. Wat we in deze aanvraag trachten uit te zoeken is of in HFPEF diabetes het proces van hartfalen versneld en verergerd. Hiervoor gebruiken we het varken omdat het hart in vorm, grootte en functie erg veel op de mens lijkt en dit dier ook in dieet (alleseter) viel op de mens lijkt. Dit is van belang omdat de behandeling van diabetes veel makkelijker is dan van hartfalen en omdat een klinisch relevant HFPEF model met diabetes nog niet bestaat.
Doel/hypothese: We gaan kijken of diabetes inderdaad HFPEF verergerd en of dit varkensmodel met diabetes de humane situatie goed weerspiegeld.
Globale aanpak vraagstelling: Een proefdiermodel is nodig omdat naar de werking van het hele hart gekeken wordt in interactie met het hele lichaam. Het varken is daarvoor qua hart en metabolisme het beste dier. Om hartfalen te induceren krijgen de dieren chirurgisch een band om de aorta geplaatst die wanneer deze aangetrokken wordt het hart dwingt steeds harder te pompen, wat tot hartfalen leidt. Na het plaatsten van de band wordt het dier diabetisch gemaakt door een middel te laten eten. Dit maakt de dieren maar mild diabetisch dus ze hebben daarvoor geen verdere behandeling of medicatie nodig en zijn verder gezond. Als we weten dat de dieren inderdaad diabetisch zijn gaan we geleidelijk aan de

band om de aorta onder een roesje aantrekken zodat het dier daar geen last van heeft. Aan het einde van het experiment kijken we naar functie en volume van het hart.

Titel studie: Protein expression of T cells stimmulated with antigen

DEC nummer: 2013.II.03.030

Staart en maneneczeem (SEM) bij paarden
Achtergrond: SEM is een allergische reactie van de huid die bij paarden voorkomt en veroorzaakt wordt door een insectenbeet van Culicoides species. Dit kan ernstige gevolgen hebben voor het paard, want door de jeuk gaat het paard zichzelf schuren en kan de huid kapot gaan en ontstoken raken. Het is nog steeds niet bekend hoe allergische reacties ontstaan en wat voor reacties er plaatsvinden in het lichaam. Verder is er ook nog geen goede behandeling. Het is wel bekend dat cellen in de huid, de zo geheten mestcellen, een grote rol spelen bij huidallergieën, en dat er T cellen zijn die eiwitten produceren om een allergische reactie te veroorzaken.
Doel/hypothese: Wij willen uitzoeken welke factoren een rol spelen bij staart en maneneczeem bij paarden om zo nieuwe therapeutische doelen te identificeren.
Globale aanpak vraagstelling: Wij willen de verschillen tussen gezonde paarden en paarden die SEM hebben onderzoeken door de cellen in het bloed te stimuleren met de allergische stof en deze op eiwit niveau te analyseren. Hiervoor nemen we maximaal 100ml bloed (wat voor een paard niet veel is die kunnen wel 4 liter per keer geven zonder problemen) en daar halen we de cellen uit die we gebruiken voor verdere analyse in het laboratorium.

Titel studie: De neuroanatomische details van de innervatie van de arteria carotis communis en arteria carotis interna

DEC nummer: 2013.II.03.031

De rol van de ontstekingsreflex bij aderverkalking gerelateerde vaatwandontstekingen
Achtergrond: Een ontsteking is een reactie van het lichaam op een schadelijke prikkel welke als taak heeft deze prikkel onschadelijk te maken. Om te voorkomen dat de ontsteking zich tegen het eigen lichaam keert dient de ontstekingsreactie te worden gereguleerd. Enerzijds vindt deze regulatie plaats via het immuunsysteem en anderzijds via het onwillekeurige zenuwstelsel, ook wel het autonome zenuwstelsel (AZS) genoemd. De regulerende werking van het AZS op de ontstekingsreacties wordt bewerkstelligd door de ontstekingsreflex. Bij deze ontstekingsreflex worden ontstekingsmediërende stofjes lokaal door zenuwtakjes van het AZS opgepikt waarna deze informatie richting de hersenen wordt gebracht. Vanuit de hersenen wordt vervolgens door specifieke afvoerende zenuwtakjes op locatie van de ontsteking het stofje acetylcholine afgegeven welke een remmende werking op de ontsteking heeft. Aderverkalking is een aandoening van de slagaders waarbij er in de wand van het bloedvat een verdikking, de zogenaamde sclerotische plaque, ontstaat. Het is bekend dat het ontstaan van dergelijke plaques wordt voorafgegaan aan een ontstekings-

reactie in de vaatwand. Indien er een bloedvat gerelateerde ontstekingsreflex bestaat, zou het extra stimuleren van de afvoerende zenuwtakjes van deze reflex mogelijk een ontstekingsremmende werking kunnen hebben. Middels een dergelijke therapeutische toepassing zou de progressie van aderverkalking kunnen worden beperkt. Omdat de halsslagaders een typische locatie zijn voor de vorming van sclerotische plaques is ervoor gekozen om de ontstekingsreflex in deze specifieke vaten te onderzoeken. In eerste instantie zal de zenuwvoorziening van de vaatwand in kaart worden gebracht middels een neuro-anatomische studie. Hierbij gaat het met name om het verloop van deze vasculaire zenuwen in de vaatwand en om de typering van deze zenuwvezels. Na het in kaart brengen van de hierboven genoemde neuro-anatomische details kan de functionaliteit van de vasculaire ontstekingsreflex worden bestudeert middels het uitschakelen of stimuleren van bepaalde zenuwvezels.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is in eerste instantie het in kaart brengen van de neurale routes van de zenuwvoorziening van de halsslagaders.
Globale aanpak vraagstelling: Gezien het feit dat deze studie zich in een preklinisch stadium bevindt zal het functioneel onderzoek, en dus ook het in kaart brengen van de neuroanatomische details van de zenuwvoorziening van de halsslagaders, vooralsnog in een diermodel (rat) worden uitgevoerd. De te onderzoeken neuroanatomische details in dit onderzoek betreft het verloop van de zenuwvezels van de halsslagaders. Het verloop van de zenuwvezels zal worden bestudeert in ratten die speciaal voor dit onderzoek worden geëuthanaseerd. De ratten zullen onder narcose worden gebracht, waarna ze vervolgens worden getermineerd door via de bloedbaan te perfuseren met conserveringsvloeistof. Vervolgens zullen de rattenhalzen gedeeltelijk worden vrijgeprepareerd waarna de zenuwvezels in de hals beter zichtbaar zijn gemaakt m.b.v. een speciale kleurmethode. Na deze kleuring kan het verloop van de zenuwvezels in de rattenhals worden bestudeerd middels microscopische dissectie.

Titel studie: Bioactive scaffold materials in small animals

DEC nummer: 2013.II.03.032

Ontwikkeling van een nieuwe aortaklep prothese
Achtergrond: Aortaklep afwijkingen komen steeds vaker voor. Meestal moet de zieke klep worden vervangen. De bestaande klep prothesen zijn levensreddend maar verre van ideaal. De kunstklep gaat lang mee maar de patiënt moet levenslang bloedverdunners slikken met risico op soms levensbedreigende bloedingen. De bioprothesen hebben een beperkte levensduur waardoor een re-operatie na enige jaren nodig is. Daarnaast is de levensduur van patiënten na klepvervanging verkort, wat toegeschreven wordt aan het niet optimaal functioneren van de huidige prothesen. “In situ tissue engineering”, het maken van levende, lichaamseigen kleppen uit cellen van de patiënt lijkt een veelbelovende weg.
Doel/hypothese: Het uiteindelijke doel is een mal in de vorm van een hartklep te implanteren. Deze mal is van materiaal gemaakt dat sterk genoeg is om als klep te functioneren en bovendien in staat is cellen aan te trekken en te laten hechten. Als deze cellen zich hebben

gehecht gaan ze het weefsel produceren wat noodzakelijk is voor klepweefsel. Als het klepweefsel sterk genoeg is zal de mal worden afgebroken. Er blijft een klep uit lichaamseigen cellen over welke in staat is om mee te groeien.
Globale aanpak vraagstelling: Samen met de Technisch Universiteit uit Eindhoven wordt er een mal ontwikkeld die kan functioneren als een klep of bloedvat, cellen kunnen hieraan binden en hierop weefsel vormen. Hierna kan de mal degraderen. In een klein dier (rat) wordt onderzocht of de mal specifieke cellen, die nodig zijn voor het maken van een hartklep, kan binden. Voor de vertaling van laboratoriumonderzoek naar de kliniek is het nodig om de mal in dieren te testen. Op deze manier kan de klep geoptimaliseerd worden voordat deze in mensen wordt geïmplanteerd.

Titel studie: The physiological relevant source of Amphiregulin that enables UVB-induced regulatory T-cell to suppress a contact hypersensitivity reaction

DEC nummer: 2013.II.03.033

Hoe onderdrukt UV-B het afweersysteem
Achtergrond: UV-B onderdrukt afweerreacties in de huid. Het is bekend dat UV-B dit doet door zogenaamde regulatoire T cellen (Tregs) te activeren, maar hoe UV-B dit precies doet is onbekend. Wij hebben onlangs gevonden dat blootstelling aan UV-B leidt tot de aanmaak van de groeifactor-achtige stof “Amfireguline”(AREG) in de huid. Dit Amfireguline bindt aan de “epidermale groeifactor receptor” op Tregs en activeert zo Tregs om afweerreacties in de huid, zoals contact-overgevoeligheid, te onderdrukken.
Doel/hypothese: In dit onderzoek willen we bepalen welke cellen na UV-B bestraling AREG produceren en zo Tregs activeren om contact-overgevoeligheid te onderdrukken. Mogelijke producenten van AREG zijn de volgende cellen: eosinofielen, basofielen en de zogenaamde “innate lymfocyten type 2” (ILC2, een onlangs ontdekte lymfocyt). In dit onderzoek willen we daarom uitzoeken welk van deze cellen een rol speelt in UV-B geïnduceerde demping van contact-overgevoeligheid.
Globale aanpak vraagstelling: Wij willen dit doen door muizen te bestralen en dan te transplanteren met een mix van beenmergcellen, afkomstig van muizen die geen AREG kunnen maken en van muizen die of geen basofielen, geen eosinofielen of geen ILC2 hebben. In de verschillende getransplanteerde muizen zullen dan basofielen, eosinofielen of ILC2 geen AREG kunnen maken. We zullen dan onderzoeken of UV-B, contact-overgevoeligheid in deze muizen kan onderdrukken.
Veel ziekten in onze samenleving worden veroorzaakt door een defect in regulatie van het afweersysteem. Als we het mechanisme dat ten grondslag ligt aan de ziekte-verminderende effecten van UV-B straling kunnen ontcijferen, zou dit wellicht mogelijkheden openen om auto-immuun- of allergische aandoeningen te behandelen.

Titel studie: Het generen van nieuwe antilichamen tegen immunologisch belangrijke eiwitten

DEC nummer: 2013.II.03.034

Ontwikkelen van nieuwe antistoffen tegen moleculen die belangrijk zijn voor het immuunsysteem
Achtergrond: Antistoffen zijn eiwitten gemaakt door cellen van het immuunsysteem die heel specifiek andere moleculen kunnen herkennen. Ze worden al verschillende jaren in laboratoria gebruikt voor diverse onderzoeken. Met behulp van deze antistoffen kan de biologische functie van moleculen worden bestudeerd. Dit soort onderzoek kan leiden tot nieuwe behandelingen, zoals al gebeurt is voor verschillende typen kanker, auto-immuun- en infectieziekten. Voor zowel onderzoek als therapie, is het wenselijk om over meerdere antistoffen met verschillende eigenschappen tegen hetzelfde molecuul te beschikken. Hierdoor kun je vanuit verschillende opzichten een beeld van het molecuul van interesse krijgen en ook op verschillende manieren de functie van dit molecuul in ziektes beïnvloeden.
Doel/hypothese: Het produceren van antistoffen tegen moleculen die een belangrijke rol spelen in het immuunsysteem.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden ingespoten met de verschillende moleculen of met cellen met de moleculen op hun oppervlakte. Als reactie op de moleculen zullen de muizen antistoffen tegen deze moleculen opwekken. Tijdens de immunisatieperiode zal er bloed van de muizen afgenomen worden om de hoeveelheden antistof in te bepalen. Als de hoeveelheden hoog genoeg zijn, zullen de muizen geëuthanaseerd worden. De antistof-producerende cellen uit de muizen worden vervolgens gebruikt om monoklonale antistoffen te genereren.

Titel studie: Optimaliseren diermodel voor chronisch nierfalen

DEC nummer: 2013.II.03.035

Optimaliseren diermodel voor chronisch nierfalen
Achtergrond: Chronische nierinsufficiëntie (onvoldoende nier werking) is wereldwijd een groeiend probleem. Het aantal patiënten dat nier vervangende behandeling (dialyse) nodig heeft neemt toe. Om nieuwe behandelingen te ontwikkelen is het nodig het effect hiervan in een diermodel te onderzoeken. Hiervoor is het van belang dat er gewerkt wordt met een stabiel diermodel.
Doel/hypothese: De voorliggende studie beoogt het ontwikkelen van een stabiel diermodel voor chronisch nierfalen.
Globale aanpak vraagstelling: Bij ratten zal chronisch nierfalen worden geïnduceerd door eerst de nierpolen te verwijderen, gevolgd door het verwijderen van de tegenoverliggende nier een week later. Tevens zullen dieren gehouden worden op een speciaal dieet. Over een periode van 12 weken zal om de week 24-uurs urine worden verzameld, bloed worden afgenomen en bloeddruk worden gemeten om de nierfunctie te kunnen bepalen. Aan het eind van de studie zal nog een experiment worden uitgevoerd om de nierfunctie bepalen.

Titel studie: Vergelijking van de effectiviteit van IgG antilichamen, IgA antilichamen en IgA antilichamen met een verlengde halfwaardetijd in een in vivo tumormodel

DEC nummer: 2013.II.03.036

Vergelijking van de effecten van IgG, IgA en aangepaste IgA antistoffen in een model voor kanker

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 hun constante deel. Op basis van hun constant deel, kunnen antistoffen worden ingedeeld 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. Daarnaast hebben eerdere dierstudies laten zien dat IgA antistoffen effectief de tumorgroei kunnen remmen. Helaas worden IgA antistoffen sneller dan IgG antistoffen door het lichaam afgebroken. Daardoor moet er meer en moeten de antistoffen vaker toegediend worden. Door de structuur van de IgA antistoffen te veranderen, kan de afbraak verminderd worden. Daarnaast zijn IgA antistoffen alleen getest in een model waarbij de behandeling op hetzelfde moment start als het vormen van de tumor. Het is dus nog niet duidelijk of de antistoffen ook werken als de tumor al gevormd is.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om de effecten van IgG, IgA en veranderde IgA antistoffen op de behandeling van kanker te vergelijken. Daarnaast willen we het effect van IgA antistoffen op een al gevormde tumor bestuderen.

Globale aanpak vraagstelling: Wij gaan de effecten van IgG, IgA en de veranderde IgA antistoffen in een tumormodel testen. Voor dit model worden tumorcellen met een label ingespoten. Door deze labels kunnen we de groei van de tumorcellen in levende muizen volgen. Voor de studies met veranderde antilichamen, worden de antilichamen op dezelfde dag als de tumorcellen ingespoten. Voor het bestuderen van de effecten van IgA antistoffen op al gevormde tumoren zullen we de tumoren eerst laten uitgroeien en dan starten met de behandeling. Ook in dit model worden IgG antistoffen ter vergelijking meegenomen. Voor het inspuiten van de antilichamen worden de muizen eerst ingespoten met een stofje dat het aantal witte bloedcellen verhoogd. De IgG antistoffen worden eenmalig toegediend terwijl de IgA antistoffen om de dag/dagelijks worden ingespoten. Tijdens deze behandelperiode wordt er regelmatig bloed afgenomen om de antistof hoeveelheden in het bloed te meten. Aan het eind van het experiment worden de dieren geëuthanaseerd.

Titel studie: De rol van CD47- SIRPa interactie in antilichaam-gemedieerde killing van tumorcellen

DEC nummer: 2013.II.03.037

De rol van de interactie tussen CD47 en SIRPa in kanker
Achtergrond: Veel cellen in het lichaam hebben het eiwit CD47 op hun oppervlakte. Dit eiwit kan binden aan het eiwit SIRPa, dat op het oppervlakte van bepaalde type witte bloedcellen, granulocyten, zit. Wanneer deze eiwitten aan elkaar binden, wordt er een negatief signaal aan de granulocyten gegeven. Dit signaal voorkomt dat de granulocyten de cel met CD47 opnemen. Kankercellen hebben ook CD47 op hun oppervlakte, waardoor deze cellen niet worden opgenomen. Daarnaast zijn er aanwijzingen dat de binding van CD47 aan SIRPa de effectiviteit van huidige medicatie voor kanker (antistoffen) kan remmen.
Doel/hypothese: Onderzoeken of het negatieve signaal veroorzaakt door de binding van CD47 aan SIRPa de effectiviteit van antistof-therapie voor kanker kan beïnvloeden.
Globale aanpak vraagstelling: We willen de rol van de interactie tussen CD47 en SIRPa in kanker onderzoeken door de effectiviteit van de behandeling met antistoffen in normale muizen en muizen met een veranderd SIRPa eiwit (in deze muizen wordt na binding van CD47 aan SIRPa geen negatief signaal aan de granulocyten gegeven) te vergelijken. Hiervoor worden twee modellen gebruikt. In het eerste model worden de tumorcellen gelabeld en ingespoten in de buikholte van de muizen. Een dag later worden de muizen behandeld met antistof (rituximab: een geneesmiddel dat al op de markt is voor de behandeling van tumoren). De volgende dag worden de dieren geëuthanaseerd en wordt de buikholte gewassen om het aantal tumorcellen te bepalen. In het tweede model worden de dieren intraveneus ingespoten met de tumorcellen. In dit model zijn de tumorcellen zo gelabeld dat de tumorgroei in levende muizen bepaald kan worden. Op dezelfde dag wordt ook het antistof (rituximab) ingespoten. De groei van de tumoren wordt gevolgd door de intensiteit van het label te bepalen. Na acht dagen worden de muizen geëuthanaseerd.

Titel studie: Upregulation of connexin43 by adenoviral gene transfer in cardiac slices and in vivo mouse hearts: effect on conduction velocity and arrhythmogeneity

DEC nummer: 2013.II.03.038

Opregulatie van connexine43 eiwitten in het muizenhart: effect op conductiesnelheid en gevoeligheid voor ritmestoornissen
Achtergrond: De helft van de mensen met hartfalen sterft als gevolg van een hartritmestoornis. Een van de factoren die hartritmestoornissen kan veroorzaken is een verlaagde elektrische koppeling (Cx43) tussen individuele hartspiercellen. In combinatie met een verhoogde bindweefsel-hoeveelheid (door veroudering) in het hart wordt de kans nog groter. Deze verlaging van elektrische koppeling (Cx 43) en toename van bindweefsel (fibrose) is precies wat we vinden in patiënten met hartfalen. Normaliseren van Cx43 zou de kans op ritmestoornissen kunnen verlagen.

Doel/hypothese: Door de hoeveelheid Cx43 en daarmee dus de elektrische koppeling te verhogen willen we het aantal voorkomende hartritmestoornissen verminderen.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie wordt de geleiding en elektrische koppeling vergelijken van muizen met normale Cx43 expressie (hoeveelheid geproduceerd Cx43), muizen met een matig verlaagde Cx43 expressie (ongeveer 50% expressie) en muizen met een sterk verlaagde Cx43 expressie (ongeveer 10% expressie). Daarnaast wordt in alle groepen de Cx43 hoeveelheid verhoogd d.m.v. een virus dat productie van Cx43 bevordert. Dit wordt gedaan in een muismodel voor hartfalen (TAC=Transverse Aortic Constriction), waarvan bekend is dat de Cx43 expressie verstoord is.

Titel studie: Circadian rhythms in the developing heart

DEC nummer: 2013.II.03.039

De rol van 24-uurs ritmes in de ontwikkeling van hartspiercellen
Achtergrond: Dag-nachtritmes spelen een belangrijke rol in het hart. Bloeddruk, hartslag, maar ook genen van het hart hebben een 24-uurs ritme. Iedere cel in het hart heeft een eigen klok. De 24-uurs ritmes van het lichaam, inclusief die in de hartcellen, zijn samen betrokken bij het beloop van hart- en vaatziekten. In onderzoek naar hartziektes en medicijnen wordt gebruik gemaakt van hartcellen. Hartcellen zijn moeilijk te verkrijgen en gaan maar kort mee. Uit stamcellen kunnen wel grote hoeveelheden hartcellen gekweekt worden. Deze cellen hebben echter het nadeel dat ze niet precies hetzelfde zijn als 'echte', volwassen hartcellen, maar lijken op hartcellen van een foetus. Ook weten we niet of de klok in stamcellen wel goed werkt.
Doel/hypothese: Het vermoeden is dat dag-nachtritmes een rol spelen bij de ontwikkeling tot volwassen hartcel. Het doel van dit onderzoek is daarom de relatie tussen dag-nachtritmes en het ontstaan van een volwassen hartcel aan te tonen.
Globale aanpak vraagstelling: Op verschillende momenten tijdens de ontwikkeling van het muizenhart, zal er gekeken worden naar de 'volwassenheid' van de hartcel en de aanwezigheid van dag-nachtritmes. Dit gebeurt door bij ongeboren en pasgeboren muizen hartweefsel te verzamelen en met verschillende technieken de 'volwassenheid' van het weefsel en aanwezigheid van dag-nachtritmes te beoordelen. Er zijn geen andere manieren om dit te onderzoeken. Bij de ontwikkeling van hartcellen in het laboratorium, een alternatief voor proefdieren, weten we al dat hartcellen 'onvolwassen' zijn. Doel van dit onderzoek is juist om te kijken waarom deze ontwikkeling niet verloopt zoals de ontwikkeling in een levend wezen.

Titel studie: Pulmonaalvenenisolatie en epicardiale dose-finding studie

DEC nummer: 2013.II.03.040

Elektrische isolatie van de longvaten en optimaliseren van de toe te passen energiehoeveelheid bij bewuste weefselbeschadiging aan de buitenzijde van het hart
Achtergrond: Hartritmestoornissen vormen een belangrijke oorzaak van ziekte en overlijden bij mensen. De

behandeling hiervan kan d.m.v. medicatie en/of bewuste hartweefselbeschadiging m.b.v. katheters (ablatie) gebeuren. De huidige ablatietechnieken hebben vaak een onvoldoende langetermijnwerkzaamheid (door onvoldoende diepte en/of -grootte van het beschadigde weefsel), of een verhoogd complicatierisico. In de afgelopen vijf jaar heeft onze onderzoeksgroep een nieuwe ablatiemethode ontwikkeld, waarbij wel goede en diepe weefselbeschadiging gemaakt konden worden, en zo goed als geen complicaties optraden. Dit kan een belangrijke stap voorwaarts zijn in de behandeling van hartritmestoornissen. In het recente verleden hebben we onderzoek gedaan naar de mogelijkheid om met deze nieuwe behandelmethode de longvaten te isoleren (behandeling van boezemfibrilleren) en weefsel aan de buitenkant van het hart te beschadigen (behandeling van mogelijk gevaarlijke hartritmestoornissen):

1. Bij eerder onderzoek bleek dat de te onderzoeken methode geschikt was om longvaten elektrisch van het linker atrium te scheiden, maar dat na 3 maanden bij ca. 50% van de behandelde vaten deze scheiding weer teniet gedaan was. Dit kwam o.a. omdat de catheter waarmee de behandeling plaatsgevonden had niet altijd goed tegen de wand van het hart aanlag.
2. Bij doelbewuste weefselbeschadiging van het hart is er een gevaar op teveel (onbedoelde) beschadiging van het hart, dit is een complicatie. De huidige technieken veroorzaken nogal eens deze complicaties. In het verleden hebben we een methode getest die heel effectief is, en die geen complicaties oplevert. Daarbij hebben we bewust een heel hoge energiehoeveelheid gebruikt, maar die zal voor de behandeling van hartritmestoornissen echter te hoog zijn.

Doel/hypothese: 1) Elektrische isolatie van de longvaten met de huidige technieken bij mensen heeft een lange termijn succespercentage van ca. 50-70 %. Dit komt door onbedoelde ondiepe weefselbeschadiging en herstelde geleiding van stroom tussen de longvaten en de linker boezem van het hart. Tevens bestaat bij de huidige behandeltechnieken het gevaar op vernauwing van de longvaten en beschadiging van zenuwen. De onderzochte nieuwe behandelmethode (irreversible electroporation) creëert diepe weefselbeschadiging, zonder bijwerkingen of schade. Dit is in meerdere dierproeven uitgebreid onderzocht en is/wordt wetenschappelijk gepubliceerd. Wij verwachten met de nieuwe behandelmethode veel betere langetermijnresultaten door diepere weefselbeschadiging en minder complicaties. 2) Epicardiale weefselbeschadiging kan ernstige complicaties veroorzaken, zoals schade aan kransslagaderen van het hart en beschadiging van zenuwen. In eerder onderzoek hebben we aangetoond dat directe, krachtige toepassing van de nieuwe behandelmethode bovenop een kransslagader geen blijvende schade oplevert. Echter, er is wel een diepe, uitgebreide weefselbeschadiging. Dit heeft geen enkele andere techniek ooit bewerkstelligt en kan gerust revolutionair genoemd worden! Tijdens dit eerdere onderzoek hebben we doelbewust een heel hoge energiehoeveelheid gekozen, met als doel de kransslagaderen te willen beschadigen (hetgeen dus niet ge-

beurd is). Nu willen we op zoek gaan naar de optimale hoeveelheid energie die nodig is voor een effectieve weefselbeschadiging.
Globale aanpak vraagstelling: Bij het varken willen we de longaders elektrisch isoleren van de linker boezem, dit doen we middels een katheter die we in de ingang van de longader leggen. Met meetapparatuur meten we de mate van wandcontact tussen katheter en wand. Aan de hand van deze meetwaarden passen we onze energiehoeveelheid en het aantal af te geven toepassingen aan. Daarna willen we met een andere katheter via een prik in het hartzakje naar de buitenkant van het hart gaan. Daar willen we een aantal verschillende energie instellingen testen. Na 3 maanden overleving zal bekeken worden of de longaders nog steeds elektrisch van de linker boezem gescheiden zijn. Tevens wordt dan bekeken hoeveel effect iedere energie instelling gehad heeft op de diepte en omvang van de weefselbeschadiging. Het onderzoek dient op een levend, kloppend hart te worden uitgevoerd om het effect drie maanden 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 drie maanden 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. Indien onze vraagstellingen positief beantwoord worden is dit een grote stap in de richting van een compleet nieuwe benaderingswijze voor de behandeling van hartritmestoornissen.

Titel studie: DESIRE in bilateral ablation model

DEC nummer: 2013.II.03.041

Lokale therapie voor chronisch nierfalen
Achtergrond: Chronisch nierfalen is een groot probleem in de Westerse wereld en de behandeling voor patiënten is vaak erg ingrijpend. Patiënten hebben een lang traject waarbij ze uiteindelijk moeten worden gedialyseerd of een niertransplantatie moeten ondergaan. Vóór dit stadium worden patiënten medicamenteus behandeld. Bij deze medicamenteuze behandeling treden vaak bijwerkingen op. Geprobeerd wordt nu om door de medicatie lokaal toe te dienen een effectievere manier van behandelen te ontwikkelen, waarbij de patiënten minder bijwerkingen hebben.
Doel/hypothese: In deze studie wordt lokaal medicatie voor chronisch nierfalen toegediend. Hierbij is de verwachting dat de medicatie chronisch nierfalen helpt voorkomen zonder dat er bijwerkingen optreden.
Globale aanpak vraagstelling: In de studie zal lokaal toegediende medicatie vergelijken worden met systemisch toegediende medicatie in ratten. Omdat de toegediende medicatie nog in een ontwikkelingsfase zit en nog maar in één nierschade model heeft gewerkt, zijn wij genoodzaakt de medicatie te testen op proefdieren. In deze studie worden de ratten chronisch nierinsufficiënt gemaakt door middel van operaties en een aangepast dieet. In deze nierinsufficiëntie ratten zal de nieuwe behandelmethode worden vergeleken met de bestaande manier van behandelen. In deze studie zullen we voornamelijk

kijken naar het effect van het medicijn op de nierfunctie en op de opgetreden schade in de nier op microscopisch niveau.

Titel studie: The role of pDCs in two mouse models - The Bleomycin and the Scl-GvHD that recapitulate the main features of SSc in human

DEC nummer: 2013.II.03.042

De rol van plasmacytoide dendritische cellen (pDCs) in de pathogenese van Systemische Sclerose (SSc)
Achtergrond: Systemische sclerose (SSc) is een ernstige aandoening van de huid en interne organen. Het grootste probleem is verbindweefseling van deze organen, hetgeen leidt tot een sterk verminderde functie waardoor strakke huid, wondjes, nier- en hart/long problemen ontstaan. Deze problemen zijn vaak ernstig en leiden tot pijn, moeheid maar ook vroeg overlijden. De oorzaak van SSc is niet opgehelderd, maar onze groep heeft de afgelopen jaren aangetoond dat de zogenaamde plasmacytoide dendritische cellen(pDCs) een belangrijke rol spelen. Deze pDCs zijn zeer sterk verhoogd aanwezig in het bloed van patiënten en hebben een veranderde functie. Met het uitvoeren van deze dierproeven willen we bewijzen dat pDCs inderdaad een centrale rol spelen in de pathogenese van SSc. De uitkomst van deze experimenten biedt ons meer inzicht in de compartimenten/organen en fasen van de ziekte waarin de pDCs een rol spelen. Met deze uitkomsten kunnen we dierproeven opzetten waarmee we de pDCs gericht willen targetten. Dit laatste stuk onderzoek is hard nodig om ons in staat te stellen om de eerste klinische trials in SSc op te zetten op basis van een nieuwe hypothese.
Doel/hypothese: Onze klinische studies laten een centrale rol zien van de pDCs in de pathogenese van systemische sclerose. Het doel van deze studie is om de frequentie en het fenotype van de pDCs te onderzoeken gedurende de vroege ontsteking en late fibrose fase in de verschillende compartimenten van twee verschillende diermodellen voor SSc.
Globale aanpak vraagstelling: We zullen twee diermodellen gebruiken om de frequentie en fenotype van de plasmactytoide dendritische cellen (pDCs) te bestuderen. Het eerste model is een geïnduceerd model, het Bleomycine model, waarbij de dieren worden blootgesteld aan Bleomycine die na herhaaldelijke toediening tot een abnormale toename van bindweefsel (fibrose) leidt. In dit eerste model is deze toename van fibrose erg sterk aanwezig. Het tweede model is een 'spontaan 'model', het Scl-GVHD model, een graft-versus-host-disease (GVHD) model waarbij donor cellen (de graft) een afweerreactie vertonen tegen het weefsel van de ontvanger (de host). In dit model leidt deze reactie uiteindelijk tot fibrose van de huid en interne organen, waarbij met name de vroege ontstekingsreactie gelijkenis vertoond met het proces dat plaatsvindt in SSc. Na het doden van dieren worden huid en long biopsies worden geïsoleerd voor immunohistochemische analyse. Verder zullen we cellen isoleren uit verschillende organen (huid, long, beenmerg, bloed, milt en lymfeklieren). Hierbij wordt met behulp van flowcytometrie een analyse gedaan op de aanwezige pDC's. Daarnaast worden cellen gekweekt en

wordt de inflammatoire cytokine productie met luminex en op RNA bekeken. Beide modellen zijn geaccepteerde modellen voor het bestuderen van deze processen die een rol spelen in SSc. In beide modellen zullen we in de vroege inflammatoire fase en in de opvolgende fase van fibrose kijken naar de aantallen pDCs en het fenotype van deze cellen. Op deze manier kunnen we aantonen of de pDCs verhoogd zijn en in welke fase van de ziekte ze in de verschillende organen aanwezig zijn. Tevens zullen we kunnen bepalen of de cellen in deze verschillende fases geactiveerd zijn en of ze vergelijkbare eiwitten maken zoals we hebben gezien in SSc. Zoals boven beschreven is SSc een ziekte met een lang en pijnlijk ziekte beloop. Patiënten hebben extreme fibrose van de huid, waarbij ook de longen, slokdarm, nieren en hart - aangedaan kunnen zijn. De ziekte leid tot een ernstige invaliditeit en vroege sterfte. De huidige medicatie is gericht op het vertragen van het ziekteproces, er is geen goede medicatie. Het verkrijgen van nieuwe inzichten draagt bij aan de ontwikkeling van nieuwe therapieën. De beperkte mate van ongerief weegt daarmee minder zwaar dan de kennis die verkregen kan worden.

Titel studie: Deciphering the role and mechanisms of CXCL4 in driving TH17 profile and ECM production in vitro

DEC nummer: 2013.II.03.043

De rol van de CXCL4 in Systemic Sclerosis (SSc) als potentieel nieuw therapeutisch doelwit

Achtergrond: Systemische sclerose is een ziekte met een lang en pijnlijk beloop en wordt gekarakteriseerd door een hoge morbiditeit en mortaliteit. Patiënten hebben extreme toename van bindweefsel (fibrose) in de huid en interne organen die daardoor worden aantast. Er is nog geen medicatie die de ziekte kan genezen; de huidige medicatie is enkel gericht op het vertragen van het ziekteproces. Deze studie zal leiden tot nieuwe inzichten over de waarde van CXCL4 als een potentieel nieuw target voor de behandeling van SSc. Recent hebben we gevonden dat CXCL4 geassocieerd is met verscheidene immuunfenomenen bij SSc. Met deze studies willen het directe mechanisme van CXCL4 op de verschillende immuuncellen onderzoeken.

Doel/hypothese: De hypothese is dat CXCL4 leidt tot een verhoogd Th17 profiel en uiteindelijk in een verhoogde productie van extracellulaire matrix (ECM; waaronder collageen). Om deze hypothese te toetsen wordt het effect van CXCL4 op dendritische cellen, macrofagen, T cell differentiatie (Th17) en collageen productie door fibroblasten onderzocht.

Globale aanpak vraagstelling: Gedurende de eerste experimenten zal het celkweeksysteem geoptimaliseerd worden, het is algemeen bekend dat er toch grote verschillen kunnen zijn tussen verschillende laboratoria. In deze experimenten zullen we met name kwaliteitsmarkers meten (dood/levend, mate van activatie en cytokine productie) van de dendritische cellen (DCs), macrofagen gedifferentieerd uit beenmerg, geïsoleerde fibroblasten en gedifferentieerde Th17 cellen. In de opvolgende experimenten zal gekeken worden naar het effect van de factoren die we verhoogd vinden in SSc patiënten (met name CXCL4 en TGF-b) op DCs, macrofagen en T cellen in relatie tot de activatie van fibroblasten. Zoals boven

beschreven is SSc een ziekte met een lang en pijnlijk ziekte beloop. Patiënten hebben extreme fibrose van de huid, waarbij ook de longen, slokdarm, nieren en hart - aangedaan kunnen zijn. De ziekte leid tot een ernstige invaliditeit en vroege sterfte. De huidige medicatie is gericht op het vertragen van het ziekteproces, er is geen goede medicatie. Het verkrijgen van nieuwe inzichten draagt bij aan de ontwikkeling van nieuwe therapieën. De beperkte mate van ongerief weegt daarmee minder zwaar dan de kennis die verkregen kan worden.

Vergadering 17 april 2013

Titel studie: Moleculair mechanisme van Ig lichte keten-gemedieerde mestcel sensibilisatie en degranulatie

DEC nummer: 2013.II.04.044

Een nieuw mechanisme voor het ontstaan van allergie en chronische ontstekingsziekten
Achtergrond: Onze onderzoeksgroep heeft nieuwe inzichten verkregen die van belang kunnen zijn in de behandeling van ziekten zoals reuma, allergie en kanker. Centraal staat de rol van een eiwitdeel van antistoffen die door het immuunsysteem worden aangemaakt.
Doel/hypothese: Het mechanisme ontrafelen waarmee onderdelen van antistoffen, de zgn. vrije lichte ketens, mestcellen kunnen activeren. Mestcellen zijn de cellen van het afweersysteem die geactiveerd worden door bv. allergenen als huisstofmijt, pollen, etc. Mestcel activatie is van belang bij het initiëren en in standhouden van ontstekingsreacties. Gedetailleerde kennis van deze activatieroute kan leiden tot het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen.
Globale aanpak vraagstelling: Er worden kweken gemaakt van primaire mestcellen uit diverse organen van de muis (beenmerg, longweefsel en peritoneaal holte) om vervolgens het mechanisme van activatie van deze cellen door vrije lichte ketens in de reageerbuis te onderzoeken. Hierbij wordt m.n. de binding aan de receptor, activatie van de cel en de afgifte van biologische actieve

stoffen (zoals histmanie) bestudeerd. Uit eerder onderzoek is gebleken dat het moleculair mechanisme niet goed onderzocht kan worden in beschikbare mestcellijnen. Primair gekweekte mestcellen biedt deze mogelijkheid wel. Hiertoe worden de muizen geeuthanaseerd, waarna vervolgens beenmerg en andere organen geïsoleerd worden uit het dier. Van deze organen wordt en celsuspensie gemaakt en gekweekt in een groeimedium met specifieke groeifactoren. Na 3-4 weken zijn deze cellen uitgerijpt tot mestcellen. Omdat we grote hoeveelheden mestcellen kunnen kweken uit relatief weinig muizen, blijft het aantal benodigde dieren zeer beperkt. Daarnaast is het ongerief voor de dieren gering omdat geen voorbehandeling hoeft plaats te vinden.

Titel studie: The effect of Erythropoietin mediated iron metabolism in BMP6 deficient mice

DEC nummer: 2013.II.04.045

Het effect van EPO op de ijzerhuishouding van de lever en nier bij afwezigheid van BMP6
Achtergrond: Erythropoietine (EPO) stimuleert de bloedaanmaak en wordt voornamelijk in de nier gemaakt. Bij nierpatiënten neemt de EPO aanmaak af en wordt deze vaak opnieuw toegediend. Van EPO is echter recentelijk bekend geworden dat dit een belangrijk effect heeft op de ijzerhuishouding in de lever. Het kan dus zijn dat de toegediende EPO wel leidt tot verhoogde bloedaanmaak, maar een verstoorde ijzerhuishouding. Om dit te testen maken wij gebruik van muizen waarin belangrijke signaalstoffen, welke dit effect van EPO sturen, niet meer aanwezig zijn. Dit zijn zogenoemde Bone Morphogenetic Protein 6 'knock out' muizen (muizen welke het genetisch materiaal voor BMP6 niet meer hebben).
Doel/hypothese: Verwacht wordt dat in de BMP6 knock out muizen na EPO injectie een verminderde verstoring van de ijzerhuishouding is te zien (BMP6 zit immers niet meer in de muizen en kan het effect van EPO niet meer doorgeven).
Globale aanpak vraagstelling: Muizen welke geen BMP6 meer hebben, krijgen gedurende een week om de dag EPO toegediend. Op de laatste dag wordt gekeken naar de ontregeling van de ijzerhuishouding met behulp van een vaste set doelwit markers welke in onder anderen het bloed, de lever en de nieren zullen worden bekeken.

Titel studie: Behandeling van bloedgeïnduceerde gewrichtsschade met een mIL4-10 synerkine

DEC nummer: 2013.II.04.046

Onderzoek naar het effect van de behandeling met een IL4-10 synerkine voor gewrichtsbloedingen bij hemofilie muizen
Achtergrond: Hemofilie A en B zijn erfelijke stollingsziekten veroorzaakt door een tekort aan een bloedstollingsfactor. Bij hemofiliepatiënten stolt het bloed hierdoor slecht en is er sprake van een bloedingsneiging. Bloedingen treden spontaan en na een trauma op, met name in de gewrichten. Bloed in het gewricht lijdt tot gewrichtsontsteking en blijvende gewrichtsschade (afbraak van het kraakbeen). De lichaamseigen signaalstoffen interleukine (IL)-4 en IL-10 kunnen de ontsteking remmen.

Deze signaalstoffen worden echter snel afgebroken door het lichaam. Daarom is er een samengesteld eiwit specifiek voor de muis, het muisIL4-10 (mIL4-10) synerkine, ontwikkeld dat langer effect kan hebben. In het laboratorium is al aangetoond dat dit beschermt tegen de schadelijke effecten van bloed rechtstreeks op kraakbeen.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is het bestuderen of behandeling met het mIL4-10 synerkine gewrichtsontsteking en kraakbeenafbraak voorkomt in hemofilie A muizen met een gewrichtsbloeding.
Globale aanpak vraagstelling: Om dit te kunnen onderzoeken wordt er een kniebloeding opgewekt in hemofilie A muizen middels een naaldenprik onder algehele verdoving. Tegelijkertijd wordt er mIL4-10 synerkine of mL-4 en mIL-10 los geïnjecteerd in de gewrichtsholte van de knie en dit wordt herhaald na twee dagen. Na twee weken wordt nogmaals een bloeding gemaakt, en nogmaals de behandeling gegeven. Dit wordt gedaan om de situatie bij hemofiliepatiënten na te bootsen die ook frequent bloedingen hebben. Na vijf weken wordt gekeken naar de mate van ontsteking en gewrichtsschade. Hemofilie A muizen worden gebruikt omdat deze lijken op hemofilie A patiënten. Laboratoriumonderzoeken kunnen geen volledig beeld van de situatie in een gewricht geven en onderzoek met hemofilie patiënten zelf is vooralsnog te belastend en te gevaarlijk.

Titel studie: Circadian rhythms in myocardial infarction and stem cell therapy

DEC nummer: 2013.II.04.047

24-uurs ritmes in hartinfarcten en stamceltherapie
Achtergrond: Dag-nachtritmes spelen een belangrijke rol in het hart. Bloeddruk, hartslag, maar ook genen van het hart hebben een 24-uurs ritme. Alle cellen in het lichaam, inclusief hartcellen, hebben een eigen dag-nachtritme. Welke invloed deze ritmes hebben op schade die ontstaat na een hartinfarct is onduidelijk. Ook weten we niet wat de rol van dag-nachtritmes is op stamceltherapie, een therapie die gegeven/ontwikkeld wordt voor patiënten waarvan het hart niet meer goed pompt.
Doel/hypothese: Het vermoeden is dat de grootte van een hartinfarct afhankelijk is van het moment waarop het hartinfarct ontstaat. Iemand die ‘s nachts een hartinfarct krijgt, zou bijvoorbeeld een groter infarct kunnen krijgen dan iemand die overdag een hartinfarct krijgt. Daarnaast bestaat het vermoeden dat stamceltherapie op sommige momenten van de dag beter werkt dan op andere. Op basis van de resultaten van het onderzoek zou stamceltherapie op het meest optimale moment gegeven kunnen worden. Het uiteindelijk doel van ons experiment is om stamceltherapie te verbeteren zodat patiënten waarvan het hart niet meer goed werkt, kunnen genezen.
Globale aanpak vraagstelling: In het eerste onderdeel van het experiment wordt bij muizen op verschillende tijdstippen een hartinfarct gemaakt en de grootte van het infarct gemeten. In het tweede onderdeel wordt wij bij muizen een hartinfarct gemaakt, op verschillende

tijdstippen van de dag cellen ingespoten en gekeken of de resultaten van deze therapie afhankelijk zijn van het moment waarop de cellen zijn ingespoten. Voor dit experiment zijn proefdieren helaas noodzakelijk. In onderzoek op cellen is aangetoond dat dag-nachtritmes van groot belang zijn voor het hart. Ook is er vanuit celonderzoek bekend dat stamcellen dag-nachtritmes hebben en dat deze van belang zijn bij de ontwikkeling van stamcellen in goed werkende hartcellen. Bij een hartinfarct en stamceltherapie spelen vele complexe bekende en onbekende processen een rol. Om het effect van dag-nachtritmes op een hartinfarct te onderzoeken moet er daarom helaas gebruik gemaakt worden van een 'echt' hartinfarct. Onderzoeken bij mensen zijn al gedaan en laten het belang van dag-nachtritmes zien bij hartinfarcten. Omdat in deze studies uiteraard geen hartinfarct wordt opgewekt, maar er alleen gekeken wordt naar bestaande gevallen, zijn ze gevoelig voor fouten (confounding) en is het niet mogelijk om te onderzoeken of het de dag-nachtritmes vanuit de hersenen of vanuit de hartcellen zijn die verantwoordelijk zijn voor de gevonden effecten.

Titel studie: Therapeutic effect of MSC-exosomes in arthritic mice

DEC nummer: 2013.II.04.048

Effect van behandeling met blaasjes (exosomen) afkomstig van menselijke mesenchymale stamcellen (MSC) op gewrichtsontsteking bij muizen
Achtergrond: We hebben al aangetoond dat mesenchymale stamcellen (MSC) afkomstig uit beenmerg van volwassenen effectief zijn in het tegengaan van gewrichtsontsteking bij muizen. Het doel is nu om te kijken of dit ook kan met de blaasjes (exosomen) die de cellen uitscheiden tijdens het kweekproces. Er zijn namelijk aanwijzingen dat de mesenchymale stamcellen vooral effect hebben via stoffen die zij uitscheiden en dat deze vaak in blaasjes verpakt zijn. Het voordeel van het geven van alleen de blaasjes zou zijn dat de cellen niet gegeven hoeven te worden. Theoretisch zouden cellen namelijk kunnen overleven en complicaties kunnen geven, zoals ongewenste weefselgroei. Het uiteindelijk doel is om de resultaten van dit onderzoek te kunnen vertalen naar de patiënt met onbehandelbare gewrichtsontsteking.
Doel/hypothese: 1) Zijn afgescheiden blaasjes (exosomen) van menselijke mesenchymale stamcellen even goed in staat gewrichtsontsteking bij muizen te dempen als de cellen zelf. 2) Is er een verschil in effectiviteit van die exosomen wanneer deze via een infuus in de bloedbaan worden gespoten of direct in het gewricht.
Globale aanpak vraagstelling: Middels een uniek muizenmodel dat het best lijkt op reuma, waarbij de gewrichtsontsteking minder ernstig verloopt na toediening van MSC, wordt geprobeerd te achterhalen of de blaasjes (exosomen) die MSC produceren even effectief zijn als de cellen zelf. Voorts wordt onderzocht of het uitmaakt of je die blaasjes in de bloedbaan spuit of direct in het gewricht. Omdat behandeling met MSC noch met exosomen in mensen getest is, dient dit onderzoek met proefdieren te worden uitgevoerd.

Titel studie: Role of innate lymphocyte (ILC) derived AREG in the regulation of inflammation in the lung - staggerer mice

DEC nummer: 2013.II.04.049

ILC als bron van een groeifactor welke regulatoire T-cellen activeert

Achtergrond: We hebben aangetoond dat regulatoire T-cellen (Tregs) uit worm-geïnfecteerde muizen longontsteking kunnen onderdrukken. Tevens hebben we aangetoond dat deze Tregs een bepaalde groeifactor, Amphiregulin (AREG), nodig hebben. Het is echter niet bekend welke cellen in de longen als bron van AREG fungeren.

Doel/hypothese: Het werd onlangs duidelijk dat een nieuw celtype, de zogenaamde aangeboren lymfocyt (ILC), AREG produceert. Verder is gebleken dat ILC een essentiële rol spelen in de totstandkoming van longontsteking, maar ook van groot belang zijn om lokale ontsteking in de longen te onderdrukken. In het hier voorgestelde experiment wordt onderzocht of ILCs tijdens longontsteking inderdaad een bron van AREG zijn en dus via deze groeifactor de functie van de lokale Tregs tijdens longontsteking vergroten.

Globale aanpak vraagstelling: Er zullen muizen gemaakt worden waarin AREG in elke cel, met uitzondering van ILC, tot expressie komt. Aangezien er geen ILC-specifieke eiwit expressie-systemen bestaan, zullen zogenaamde gemengde beenmerg (BM) chimere muizen gemaakt worden, waarin BM van ILC-deficiënte muizen en AREG gen-deficiënte muizen in bestraalde normale muizen getransplanteerd wordt. Een dusdanig gemaakte chimere muis bezit alle celtypes - ook ILC - en kan dus een normale immuunrespons opwekken. Het enige verschil met de controle muis is dat de ILC in deze chimere muis geen AREG tot expressie brengt. Indien gevonden wordt dat de Tregs in deze muizen niet in staat zijn om longontsteking te onderdrukken, dan zou dat betekenen dat ILC een belangrijke bron van AREG zijn en via AREG Tregs aanzetten om longontsteking te onderdrukken. In deze proef is het gebruik van proefdieren noodzakelijk, omdat het afweersysteem zo complex is dat het niet kunstmatig na te bootsen is.

Titel studie: ivalVE - in situ Tissue engineered vascular grafts in small and large animals

DEC nummer: 2013.II.04.050

Ontwikkeling van een nieuwe vasculaire prothese

Achtergrond: Verkalking in de kransslagaderen komt steeds vaker voor. Op dit moment krijgen patiënten die last hebben van de adervernauwing een “bypass” operatie. Bij deze operatie wordt gebruik gemaakt van een ader uit het onderbeen of een slagader uit de borstwand of de onderarm. Na 5 jaar is 30% van deze grafts nog open. Veel patiënten hebben hierdoor kans op een reoperatie. “In situ tissue engineering”, waarbij levende, lichaamseigen vaten uit cellen van de patiënt worden gemaakt lijkt een veel belovende weg.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is een mal in de vorm van een bloedvat inplanteren. Deze mal is van materiaal gemaakt dat sterk genoeg is om als bloedvat te functioneren en bovendien in staat is cellen aan te trekken en te laten hechten. Als deze cellen zich hebben

gehecht gaan ze het weefsel produceren wat noodzakelijk is voor een bloedvat. Als het nieuw gevormde vaatweefsel sterk genoeg is zal de mal worden afgebroken. Er blijft een bloedvat uit lichaamseigen cellen over welke in staat is om mee te groeien met de patiënt.
Globale aanpak vraagstelling: Samen met de Technisch Universiteit uit Eindhoven wordt er een mal ontwikkeld die kan functioneren als een bloedvat, cellen kunnen hieraan binden en hierop weefsel vormen. Hierna kan de mal afbreken. In een klein dier (rat) is aangetoond dat deze methode zeer effectief is, wat als gevolg heeft dat er nieuwe lichaamseigen vaten ontstaan. Om de vertaling naar de kliniek te kunnen maken is onderzoek in grote dieren (varken) noodzakelijk. Op deze manier kan de vaatprothese worden geoptimaliseerd worden voordat deze in mensen wordt geïmplanteerd.

Titel studie: Het intraveneus toedienen in de staart ader van de muis trainen

DEC nummer: 2013.II.04.051

Het intraveneus toedienen bij muizen trainen
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Onze onderzoeksgroep doet onderzoek naar de behandeling van kanker met antistoffen. Antistoffen zijn eiwitten gemaakt door cellen van het immuunsysteem die heel specifiek andere moleculen kunnen herkennen en worden op dit moment al gebruikt als behandelingsmethode voor o.a. kanker. Wij proberen meer te weten te komen over het werkingsmechanisme van deze antistoffen en proberen daarmee de behandeling te verbeteren. Daarnaast ontwikkelen we ook nieuwe antistoffen. Deze antistoffen worden niet alleen gebruikt als behandeling maar ook voor diverse onderzoeken in laboratoria. Voor beide onderzoeken (het bestuderen van het werkingsmechanisme en het ontwikkelen van nieuwe antistoffen) moeten we regelmatig cellen (bijvoorbeeld kankercellen) in een ader in de staart van de muis injecteren (intraveneus). Er is op dit moment maar één medewerker in onze groep die deze techniek beheerst. We willen graag dat twee andere medewerkers deze techniek ook leren om deze ene medewerker te ontlasten en om te zorgen dat de experimenten door kunnen gaan als deze medewerker niet aanwezig is.
Opzet van het onderwijs element: De medewerker die inmiddels veel ervaring heeft met het intraveneus inspuiten van de muizen zal de andere twee medewerkers de techniek leren. Hiervoor zullen in eerste instantie muizen, die onder narcose gebracht zijn, gebruikt worden. Later worden er muizen zonder narcose gebruikt. Omdat gepigmenteerde muizen moeilijker te injecteren zijn dan niet-gepigmenteerde muizen zullen we in eerste instantie niet-gepigmenteerde muizen gebruiken en later gepigmenteerde muizen. Voor deze trainingen zullen alleen muizen worden ingezet die vanwege hun genetische achtergrond of geslacht niet bruikbaar zijn voor het onderzoek. Het goed intraveneus toedienen van cellen kan het ongerief van muizen tijdens een experiment sterk verminderen. Het is dus belangrijk dat medewerkers deze techniek goed aangeleerd krijgen.

Titel studie: Effect of C1 esterase inhibitor on systemic neutrophil kinetics in a femur fracture model with or without pulmonary contusion

DEC nummer: 2013.II.04.052

De rol van het medicijn C1-esterase inhibitor op het aangeboren immuunsysteem in een traumatisch model met een bovenbeen breuk met en zonder een traumatische long kneuzing

Achtergrond: Na een ongeluk (trauma) wordt het immuunsysteem overgeactiveerd, dit kan leiden tot complicaties zoals orgaanschade en longschade (ARDS). De neutrofiel, de belangrijkste witte bloedcel betrokken bij activatie van het immuunsysteem, lijkt een grote rol te spelen. Het medicijn C1-esterase remmer (C1 INH) lijkt een gunstig effect te hebben op dempen van een overmatige immuunreactie. In deze studie willen we het effect van C1 INH bij een mono-trauma (alleen een bovenbeen breuk of alleen een longkneuzing) en bij een multi-trauma (de bovenbeen breuk gecombineerd met de longkneuzing) onderzoeken.

Doel/hypothese: Door het geven van het medicijn (C1-INH) na een trauma, het overgeactiveerde immuunsysteem kunnen dempen en hierdoor complicaties zoals orgaanfalen en ARDS verminderen/voorkomen.

Globale aanpak vraagstelling: Ratten zullen worden blootgesteld aan mono-trauma: een femur (dijbeen) fractuur (breuk) dan wel longkneuzing (door middel van een drukgolf op de borstkast). Een andere groep ratten zal worden blootgesteld aan een multi-trauma (een dijbeen breuk in combinatie met een longkenuzing). In elke groep zal een deel behandeld worden met het medicijn C1-esterase inhibitor (C1-INH) en het andere deel met placebo. De verwachting is dat behandeling met C1-INH het overmatig reagerende immuunsysteem gedempt kan worden. Alle ratten zullen worden beademd tijdens het vier uur durende experiment en zullen na deze vier uur, terwijl ze nog onder anesthesie zijn, getermineerd worden. Bij de ontwikkeling van een systemische inflammatoire response na een trauma speelt het immuunsysteem een zeer belangrijke rol. Activatie van het immuunsysteem is erg complex, we hebben niet de kennis om experimenten in vitro te stimuleren of het geheel na te bootsen met een computermodel. Bij een in vivo dierstudie kan de ernst van het trauma worden gestandaardiseerd en kan de reactie van het immuunsysteem hierop nauwkeurig bepaald worden.

Vergadering 15 mei 2013

Titel studie: A role of oxygen metabolism in injury after kidney transplantation

DEC nummer: 2013.II.05.053

Zuurstof stofwisseling na niertransplantatie
Achtergrond: Onvoldoende nierwerking van de donornier na nier transplantatie is wereldwijd een groeiend probleem. Het aantal patiënten dat acute of chronische nierschade krijgt 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 de mechanisme van schande na niertransplantatie te onderzoeken. Uit studies in dieren blijkt dat er een gestoorde zuurstof stofwisseling na ischemie bestaat. Daarom willen we het effect van niertransplantatie onderzoeken.
Doel/hypothese: Verandering in de zuurstof stofwisseling van de nieren na niertransplantatie veroorzaakt onvoldoende nierwerking van de donornier.
Globale aanpak vraagstelling: Om het effect van de niertransplantatie en zijn invloed op nierwerking te bestuderen, moet een niertransplantatie procedure in ratten gedaan worden. Er zal een nier in een gezonde rat getransplanteerd worden om te kijken hoe de ischemie tijdens transplantatie de zuurstof stofwisseling beïnvloedt. Het ontstaan van nierschade en het effect van de transplantatie hierop kan niet in vitro of in computermodellen gesimuleerd worden. Dit komt doordat de complexe en nog onbegrepen interactie tussen het lokale nierweefsel en de pathologische omstandigheden.

Titel studie: Evaluation of the pharmacokinetics of two novel anti-inflammatory drugs: IL4-10 synerkine and IL1RA-1RA synerkine

DEC nummer: 2013.II.05.054

Het bepalen van de farmacokinetiek van twee nieuwe ontstekingsremmende geneesmiddelen: IL4-10 synerkine en IL1RA-1RA synerkine en het vergelijken hiervan met de farmacokinetiek van de afzonderlijke cytokines recombinant IL4, recombinant IL10 en recombinant IL1RA
Achtergrond: Regulatoire cytokines zoals interleukine-4 (IL4), interleukine-10 (IL10) maar ook interleukine-1 receptor antagonist (IL1RA) zijn in staat om ontstekingsreacties te onderdrukken en hebben om die reden veel potentie voor klinische toepassing. In het verleden heeft men geprobeerd bovenstaande cytokines als geneesmiddel te ontwikkelen en recombinant IL1RA, beter bekend als Anakinra, wordt inmiddels in de kliniek gebruikt. Een nadeel van de cytokines is echter hun relatief korte effectiviteit in het lichaam, een direct gevolg van het lage molecuulgewicht van deze eiwitten en de daarmee samenhangende snelle klaring via de glomeruli in de nieren. Binnen het UMCU is een nieuwe technologie ontwikkeld, welke het mogelijk maakt om twee cytokines aan elkaar te koppelen, waardoor een zogenaamd

fusie eiwit ontstaat. Deze fusie eiwitten noemen we synerkines. Tot nu toe zijn twee synerkines met succes ontwikkeld: het IL4-10 synerkine en het IL1RA-1RA synerkine. Het IL4-10 synerkine bestaat uit de cytokines IL4 (15 kDa) en IL10 (natuurlijk voorkomend als dimeer met een grootte van 37 kDa). Door deze cytokines te koppelen, is de geschatte grootte van het synerkine-dimeer minstens 67 kDa, waardoor de synerkine eigenlijk volledig beschermd is tegen klaring door de nieren. Het IL1RA-1RA synerkine, bestaande uit twee IL1RA cytokines (elk 17.3 kDa), is ontwikkeld als verbeterde variant op het op het geneesmiddel Anakinra. Van Anakinra is bekend dat de effectiviteit hiervan voornamelijk gehinderd wordt door een snelle klaring in de nieren. Eiwitten met een grootte van 15 tot 45 kDa worden namelijk, afhankelijk van grootte, snel uitgescheiden door de nieren. Door het koppelen van de twee IL1RA moleculen verwachten wij een grote verbetering in de effectiviteit door een verminderde klaring.
Doel/hypothese: Om te onderzoeken of de farmacokinetiek van het IL4-10 synerkine en het IL1RA-1RA synerkine inderdaad verbeterd is ten opzichte van de afzonderlijke cytokines recombinant IL4, recombinant IL10 en recombinant IL1RA, zal in deze studie de farmacokinetiek van de verschillende eiwitten vergeleken worden.
Globale aanpak vraagstelling: Voor het evalueren van de farmacokinetiek van de verschillende eiwitten, zullen ratten intraveneus ingespoten worden met synerkine en cytokine. Op diverse tijdspunten voor en na het inspuiten zal, met behulp van een canule, bloed afgenomen worden bij de ratten. Met behulp van gevalideerde en specifieke eiwitbepalingen, zullen in het plasma van de ratten de verschillende synerkinen en cytokinen gemeten worden. Een rat is een veel gebruikt en gevalideerd model voor farmacokinetiek studies. Omdat het primaire doel van het ontwikkelen van de synerkines het verbeteren van de effectiviteit is, is het voor ons erg relevant om in een vroeg stadium de farmacokinetiek te evalueren.

Titel studie: Role of leukotriene B4 (LTB4) in cardiac ischemia/reperfusion (I/R) injury - activation of circulating leukocytes following I/R injury

DEC nummer: 2013.II.05.055

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 het geval is 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 zeer snel naar het gebied met dode en beschadigde cellen. Als dit te veel 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 één dag een kleiner infarct en hebben een betere hartfunctie

na 28 dagen. In deze studie bestuderen we de invloed van het medicijn op afweercellen in het bloed om het effect van het medicijn beter te begrijpen.
Globale aanpak vraagstelling: De muizen zullen een hartinfarct geïnduceerd 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. Er wordt bloed afgenomen bij de muizen vlak voor het hartinfarct en op verschillende tijdstippen na het hartinfarct, waarna de cellen in het bloed worden geanalyseerd in het lab. 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: Test effectiviteit van een nieuw stent design ten opzichte van klinische standaard stents

DEC nummer: 2013.II.05.056

Test effectiviteit van een nieuw stent design ten opzichte van klinische standaard stents
Achtergrond: Bij een hartinfarct krijgen veel patiënten een stent ingebracht om het vernauwde bloedvat te openen en open te houden. Op ten duur is er echter een kans dat de cellen in de vaatwand delen (proliefereren) en naar het lumen groeien en daardoor het vat opnieuw vernauwen. In de kliniek probeert men dit tegen te houden door op de stent een medicijn aan te brengen dat voorkomt dat de cellen delen. Tegelijk voorkomen dergelijke medicijnen echter ook dat de binnenkant van de stents worden bekleed met endotheelcellen. Deze cellen vormen als het ware het wandbehang van de vaten. Als deze cellen ontbreken is er een grotere kans dat er bloedstolsel op de stent ontstaan. In deze studie willen we kijken naar het effect van een stent dat een medicijn afgeeft om celdeling te voorkomen en tegelijk voorlopercellen van endotheel uit het bloed wegvangt zodat er een degelijke laag van endotheelcellen kan groeien op de stent.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om een stent die zowel celdeling aan de buitenkant voorkomt en voorlopercellen voor endotheel wegvangt aan de binnenkant te vergelijken met een stent die alleen celdeling kan voorkomen.
Globale aanpak vraagstelling: Stents met een buitenlaag dat een medicijn bevat om celdeling te voorkomen en een binnenlaag dat voorlopercellen van endotheel uit het bloed kan vangen worden gemaakt en ingebracht in konijnen. Tegelijk wordt er als controle een stent, die de huidige klinische standaard vormt en alleen celdeling voorkomt, ingebracht. Doordat elk dier zo zijn eigen controle vormt, kunnen we kijken welke stent beter is om een nieuwe vaatvernauwing te voorkomen en tegelijk het ontstaan van een beschermende endotheellaag te bevorderen. Hierbij spelen een groot aantal factoren en cellen een belangrijke rol, zodat deze experimenten alleen in intacte organismes doorgevoerd kunnen worden.

Titel studie: G01 anti-Grem + UUO 7/14d

DEC nummer: 2013.II.05.057

Anti-Gremlin therapie bij muizen in het eenzijdig urineleider obstructie model voor nierziekte

Achtergrond: Nierziekten leiden bijna altijd tot verlittekening, met als gevolg de afhankelijkheid van nierdialyse of niertransplantatie voor de patiënt. Het is bekend dat Gremlin in een grotere mate aanwezig is in de nieren patiënten waar nierziektes zijn geconstateerd. Wij willen weten of de nierschade zal afnemen wanneer we ervoor zorgen dat de functie van Gremlin geblokkeerd wordt door middel van het toedienen van anti-Gremlin.

Doel/hypothese: Aantonen dat Gremlin een direct effect heeft op het ontstaan van verlittekening van de nier, en dat dit geremd kan worden door middel van anti-Gremlin therapie.

Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek zal gebruik worden gemaakt van muizen: een controle groep, en een groep waarbij eenzijdig de urineleiders van deze muizen worden geobstrueerd. In de geobstrueerde muizen wordt vervolgens anti-Gremlin, Isotype control of niets toegediend. Hierna zal het verschil in de ontstane nierschade door de obstructie tussen deze verschillende groepen vergeleken worden met elkaar en ten opzichte van de controle groep. Omdat bekend is dat Gremlin verhoogd aanwezig is in gebieden met schade, verwachten wij dat wanneer de activiteit van Gremlin geblokkeerd wordt, de schade beperkt zal blijven. De ontwikkeling van een chronische nierziekte en de daarbij behorende fibrose is een zeer complex proces waarbij vele verschillende celtypen en signaalstoffen betrokken zijn. vooralsnog is het vrijwel onmogelijk om dit proces in celkweek na te bootsen en is het dus noodzakelijk om proefdieren te gebruiken.

Titel studie: Anti-Gremlin G01 therapie bij AA 2.5 mg/mg muizen

DEC nummer: 2013.II.05.058

Toediening van anti-Gremlin in muizen met aristolochic acid veroorzaakte nierschade

Achtergrond: Nierziekten eindigen bijna allemaal in verlittekening van de nier, deze littekens ontstaand door signaalstoffen. Mogelijk is Gremlin een aantrekkelijk doelwit voor therapieën gericht op het voorkomen van nierlittekens. In dit onderzoek wordt gebruik gemaakt van een diermodel waarin een stof (aristolochic acid) ingespoten wordt. Deze stof is schadelijk voor de nier en bootst zo op een adequate wijze nierschade na. In dit diermodel hopen wij te zien dat, wanneer wij de rol van Gremlin willen blokkeren door middel van een antistof (anti-Gremlin), de nierschade beperkt zal blijven en dat dit diermodel zal bijdragen om het verband tussen Gremlin en de complicaties van chronische nierschade aan te tonen.

Doel/hypothese: Door het toedienen van anti-Gremlin zal de activiteit van Gremlin afnemen en daarmee ook de schade die dit eiwit zal veroorzaken. Er zal minder nierverlittekening ontstaan in de muizen waarbij anti-Gremlin is toegediend.

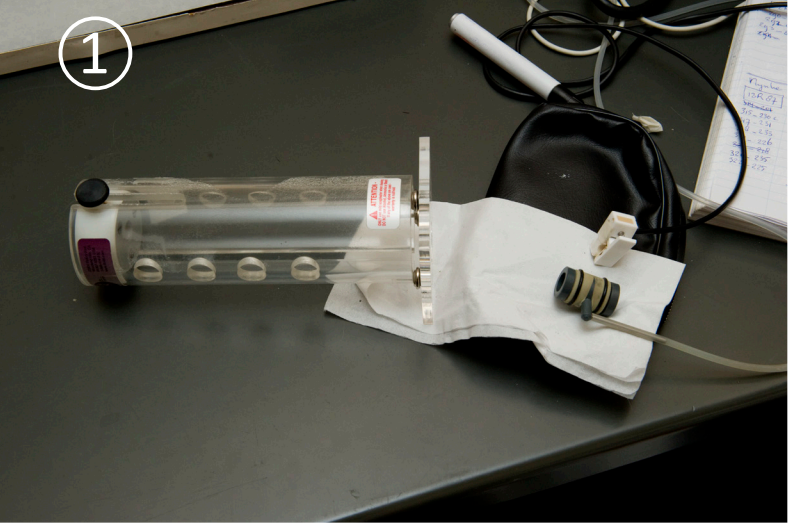
Globale aanpak vraagstelling: In muizen zal een reeds bewezen nierschademodel gebruikt worden. Het is bekend dat Gremlin in een hogere concentratie in de

nieren aanwezig is wanneer er schade plaatsvindt in deze nieren. In deze studie zal er nierschade worden geinduceerd door middel van toediening van het toxische Aristolochic Acid. Vervolgens zal er gekeken worden of de schade in de nieren afneemt waaneer de activiteit van Gremlin geremd wordt. Dit zal worden gedaan middels toediening van anti-Gremlin.

Titel studie: Het therapeutisch effect van een vaatstabilisator op nierfunctie in een model van chronisch nierfalen

DEC nummer: 2013.II.05.059

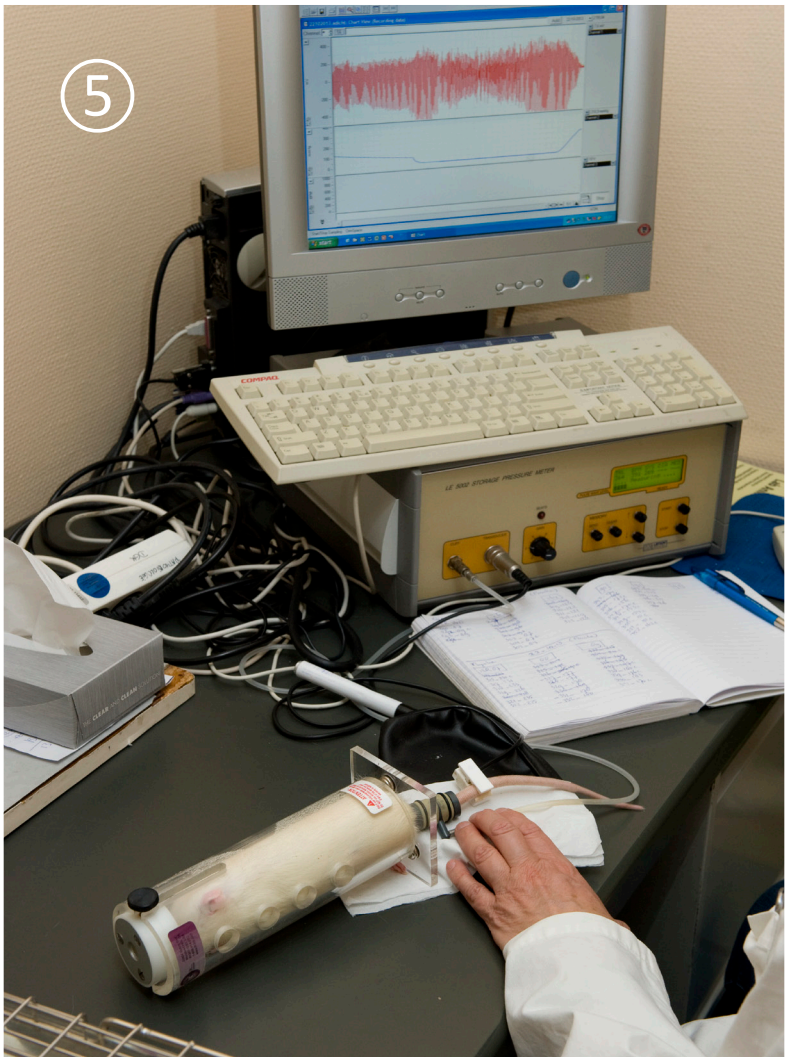
Het therapeutisch effect van vaatstabilisatie op nierfunctie in een model van chronisch nierfalen
Achtergrond: Het netwerk van vaten is belangrijk bij het ontstaan en de ontwikkeling van nierfalen. Met name wanneer de interactie tussen vaatcellen en pericyten (cellen die de vaten fysiek ondersteunen) is verstoord kan nierfalen zich verder ontwikkelen. Een eiwit wat de interactie tussen vaatcellen en pericyten in stand houdt kan mogelijk als therapie dienen voor chronisch nierfalen.
Doel/hypothese: De voorliggende studie beoogt te onderzoeken of het toedienen van een vaat stabiliserend eiwit helpt in het verbeteren van de nierfunctie in een diermodel met chronische nierinsufficiëntie.
Globale aanpak vraagstelling: In een rattenmodel van chronisch nierfalen zal als behandeling een eiwit worden toegediend dat zorgt voor vaatstabilisatie. De effecten van dit eiwit op nierfunctie (o.a. proteinurie, ureum en bloeddruk) zullen worden gemeten. Na afloop van de proef zal ook histologie en andere in-vitro werkzaamheden worden uitgevoerd. De resultaten van deze studie kunnen bijdragen aan het ontwikkelen van een nieuwe therapie voor patiënten met chronisch nierfalen. Doordat de nier een complex orgaan is, is het niet mogelijk deze experimenten in vitro uit te voeren.


1


2


3


4

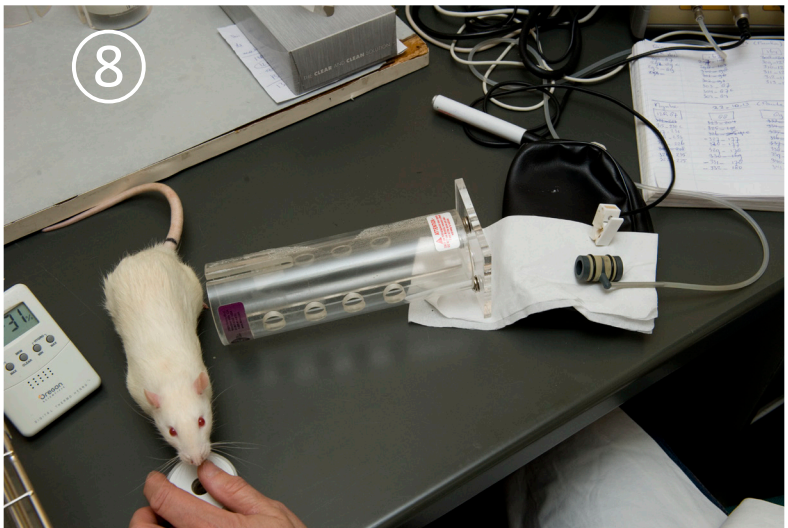

5

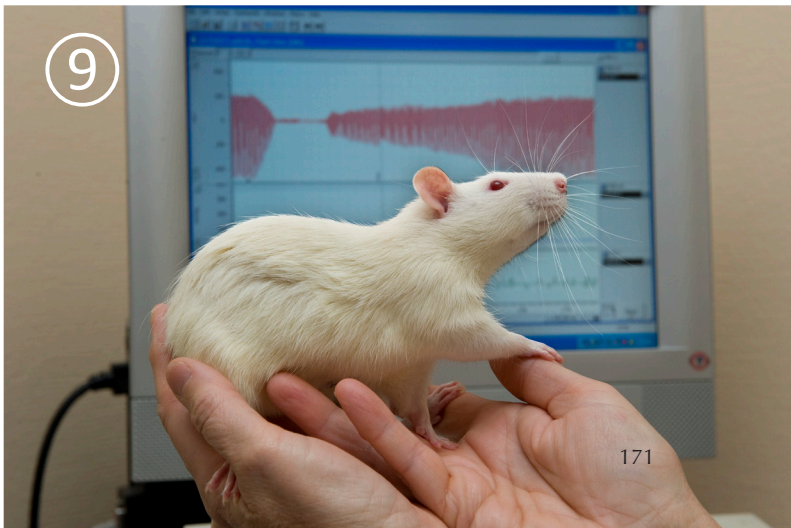




Bloeddruk meten met behulp van de tailcuff

Foto 1: Benodigdheden voor tailcuff: restrainer, cuff, pulse transducer, warmtelamp en computer met beeldscherm, toetsenbord, muis en software.
Foto 2: De rat loopt de restrainer in. Hiervoor zijn de ratten getraind.
Foto 3: De cuff wordt om de staart geschoven.
Foto 4: De cuff en de pulse transducer zitten om de staart. De cuff wordt gefixeerd met de hand.
Foto 5: Door op een knop te drukken, wordt de druk opgevoerd totdat de pulse nul is. De druk in de cuff neemt vervolgens langzaam af en je ziet de pulse terugkomen op het beeldscherm. Dit punt is de systolische druk.
Foto 6: De ratten zitten een half uur onder een warmtelamp bij ongeveer 32ºC, dit om de vaten te verwijden.
Foto 7 en 8: Na een meting van ongeveer 15 minuten gaan de ratten uit de restrainer.
Foto 9: De ratten zijn goed getraind en worden nooit aan de staart opgepakt, maar altijd met de volle hand. De ratten zijn gewend aan de persoon (dit is altijd dezelfde persoon per studie) die de bloeddrukmetingen uitvoert.





Titel studie: The effect of RO6868847 on myocardial ischemia reperfusion injury in a porcine model of ischemia reperfusion injury

DEC nummer: 2013.II.05.060

Een nieuw medicijn voor patiënten de lijden aan 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 dotterbehandeling te helpen die de doorbloeding van het hart herstelt. Desondanks leidt een hartinfarct bij 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 een negatieve invloed heeft op het herstel van het hart. Daarom is het noodzakelijk dat er nieuwe medicijnen worden gevonden die deze acute ontstekingsreactie tegengaan, om op deze manier zoveel mogelijk hartspierweefsel in leven te houden na een acuut hartinfarct.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het testen van een nieuw middel in varkens om te kijken hoe effectief het is. De verwachting is 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 zal een verbeterde hartfunctie leiden tot een betere kwaliteit van leven, een langere overlevingsduur en een reductie in de zorgkosten.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studie zullen varkens, nadat ze zijn onderworpen aan een hartinfarc,t behandeld worden met verschillende doseringen van het medicijn of met een placebo. Varkens zijn het beste vergelijkbaar met mensen m.b.t. de gevolgen van een hartinfarct. Enkele dagen na het infarct wordt gekeken naar de hartfunctie en wordt de infarct grootte bepaald. Door de hartfunctie en de grootte van het hartinfarct te vergelijken tussen de verschillende groepen kan gekeken worden of het medicament goed werkt en ook geeft het informatie over de effectiviteit en bijwerkingen die het middel mogelijk met zich mee brengt. Indien de resultaten positief zijn, dan vormt dit een belangrijke stap richting een klinisch toepasbare behandeling en zou gekeken kunnen worden of behandeling met dit middel bij de mens ook effectief zou kunnen zijn. Echter, voordat dit medicijn in patiënten toegepast mag worden, moet het eerst in dieren wordt getest.

Titel studie: Aanhoudende stress draagt bij aan ontwikkeling en verergering van de symptomen van chronische astma

DEC nummer: 2013.II.05.061

Aanhoudende stress draagt bij aan ontwikkeling en verergering van de symptomen van chronische astma

Achtergrond: Astma is een chronische ontstekingsziekte van de luchtwegen. Met name kinderen, maar ook volwassenen, lijden aan deze ziekten en krijgen het pe-

riodiek 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 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 wordt gekeken naar de rol van stress bij de ontwikkeling van luchtweghyperreactiviteit, ontsteking en airway remodeling.

Doel/hypothese: Aangezien eerder is aangetoond dat stress negatieve effecten kan hebben op het immuunsysteem, zijn we geïnteresseerd in de effecten van chronische stress op de symptomen van chronische astma. De verwachting is dat stress niet alleen de uiteindelijke symptomen van chronische astma verergerd, maar ook bijdraagt aan heftigere verschijnselen tijdens de ontwikkeling van astma.

Globale aanpak vraagstelling: Door de mogelijkheid van nieuwe gevestigde diermodellen, is het mogelijk astma te induceren met huisstofmijt. Dit is klinisch relevanter dan voorgaande “OVA” modellen omdat het gebruik maakt van een natuurlijke stof i.p.v. een synthetische stof. Daarbij zijn er nu chronische modellen waarbij zelfs naar de chronische symptomen van astma kan worden gekeken, zoals airway remodeling. Het is bekend dat stress invloed heeft op het immuunsysteem en de vatbaarheid/intensiteit van allergieën. Wij zijn benieuwd naar de effecten van terugkerende stress (zoals mensen dat ook ervaren in het dagelijks leven) op de symptomen van chronische astma. Net zoals bij de mens zullen de proefdieren een langere tijd aan allergenen worden blootgesteld.

Omdat het in dit onderzoek gaat om een interactie van verschillende systemen is het gebruik van proefdieren noodzakelijk. Onderzoek doen naar de effecten van stress op belangrijke symptomen van astma, zoals luchtwegfunctie en de structuur verandering van de luchtwegen, is erg lastig in de mens. Hoe standaardiseer je stress bij mensen en hoe vergelijk je longen van astmatische of gestreste mensen met de longen van andere gezonde levende mensen. Het induceren van stress op muizen is wel goed te standaardiseren en daarbij is de biologische variëteit van de luchtwegfunctie kleiner. Om de effecten van stress op astma te kunnen meten, induceren we chronische astma (6 weken) in muizen, gepaard met een dosis sonische stress, die om de dag wordt toegediend. Vervolgens wordt de luchtwegfunctie en de structuur verandering van de luchtwegen gemeten.

Vergadering 12 juni 2013

Titel studie: Immune responses to mucosally applied particles

DEC nummer: 2013.II.06.062

Karakteriseren van de afweerreactie na nasaal toegediende partikels in combinatie met een hulpstof
Achtergrond: Pluimvee is erg gevoelig voor infecties aan de luchtwegen en in de darm. Dit kan voor grote economische verliezen zorgen in de pluimvee-industrie. Voor de ontwikkeling van vaccins die geschikt zijn voor mucosale toediening (via het slijmvlies) is het belangrijk om te onderzoeken welke cellen betrokken zijn bij de opname van nasaal toegediende partikels gecombineerd met een hulpstof, en hoe een afweerreactie vervolgens opgewekt wordt zodat uiteindelijk een vaccine met een goede beschermende werking ontwikkeld kan worden. Doel/hypothese: In eerder onderzoek is onderzocht waar een stof terecht komt na toediening via de neus, de luchtpijp of het ooglid. Hieruit bleek dat via de neus de meest gunstige route was voor toediening van een stof. In het huidige experiment wordt de opname door fagocyterende cellen (cellen van het aangeboren afweersysteem, die onder andere betrokken zijn bij de opname van lichaamsvreemde stoffen en ziektekiemen) van nasaal toegediende partikels in combinatie met een hulpstof geanalyseerd. Verder wordt ook de adaptieve afweerreactie (verworven afweersysteem) op een later tijdspunt bestudeerd.

Globale aanpak vraagstelling: Kippen krijgen via de neus partikels toegediend in combinatie met een hulpstof. Als partikels worden fluorescerende bollen (controle groep), fluorescerende bollen gekoppeld met NDV virus, of fluorescent NDV virus gebruikt. Op verschillende tijdspunten na toediening wordt de opname van deze partikels door fagocyterende cellen geanalyseerd. Op een later tijdspunt wordt ook onderzocht of er een goede adaptieve response opgewekt is tegen deze partikels. Voor dit onderzoek is een dierproef noodzakelijk. De fagocyterende cellen die aanwezig zijn in de mucosale weefsels hebben een tolerant fenotype. Dit betekent dat ze geen ongewenste afweerreacties tegen onschuldige stoffen die ingeademd worden op gang brengen. Deze cellen zullen dus ook niet effectief reageren wanneer een vaccinstof via de neus wordt toegediend. Daarom is een goede hulpstof noodzakelijk om deze cellen wel te activeren. Dit kan niet met in vitro gekweekte cellen nagebootst worden. Verder moet een stof die via de neus toegediend wordt voldoende lang aanwezig blijven, zodat deze opgenomen kan worden door de fagocyterende cellen. In vitro kan bijvoorbeeld het effect van mucociliaire klaring (de constante afvoer van slijm), slikken of niezen niet onderzocht worden.

Titel studie: Onderzoek naar de effecten van anti-citrulline antibodies in een model voor IBD in de muis

DEC nummer: 2013.II.06.063

Anti-citrulline antilichamen en mogelijke therapeutische werking in ontstekingsziekten in de darm

Achtergrond: Inflammatory Bowel Disease (IBD), waaronder Colitis Ulcerosa en de ziekte van Crohn, is een verzamelnaam voor chronische ontstekingen van het darmstelsel. Er is nog maar weinig bekend over hoe IBD ontstaat. Mogelijk spelen ontstekingscellen hier een rol en zorgen zij ervoor dat vrijzetting van o.a. enzymen optreedt. Bekend is dat vrijgezette enzymen op hun beurt zorgen voor de vorming van nieuwe producten (gecitrullineerde eiwitten) die in deze cascade nieuwe reacties teweegbrengen, waardoor het lichaam tegen zichzelf gaat reageren (=auto-immuniteit). Uit onderzoek blijkt dat in patiënten met auto-immuunziekten (Colitis Ulcerosa en Crohn) tegenstoffen, gericht tegen gecitrullineerde eiwitten, sterk verhoogd aanwezig zijn. Behandelingen tegen darmontstekingen zorgen tot nu toe slechts voor symptoombestrijding en hebben allen bijwerkingen omdat ook processen in het lichaam aangetast worden. We willen in deze studie twee verschillende anti-citrulline antilichamen bestuderen in hun (dosis) afhankelijke effecten op de darmontstekingen, groei en stoelgang in een muismodel dat kenmerken vertoont van IBD. De afwijkingen die hierin worden waargenomen komen dan overeen met de klachten in een mens met darmziekte: diarree, bloed in de ontlasting en darmontstekingen. Dit model zou de mogelijkheid bieden om deze klachten te remmen door middel van behandeling met anti-citrulline antilichamen om zo de rol daarvan op het ontstaan van IBD beter te kunnen onderzoeken in een diermodel. Deze antilichamen zouden dan ook toegepast kunnen worden als therapie tegen darmziekten. Doel/hypothese: In dit project wordt het (dosis-afhankelijke) effect van anti-citrulline antilichamen onderzocht in relatie tot de darmontstekingen, ontstekingsstoffen, groei en stoelgang in een muismodel dat kenmerken vertoont van IBD. De hypothese is dat met behulp van deze antilichamen de klachten van darmziekten dosis afhankelijk geremd kunnen worden.

Globale aanpak vraagstelling: IBD brengt veel ellende met zich mee voor patiënten (bloedverlies, gewichtsverlies, continue pijn, vermoeidheid, enz.) en een voortgaande verslechtering van de levensomstandigheden. Tot nu toe is goede en doeltreffende medicatie niet voorhanden. Aangezien darmziekten het gehele menselijke systeem aantasten, zijn in vivo experimenten nodig om kennis te verzamelen over deze aandoening. In ons experiment gebruiken we de muis in het darmontstekingsmodel en trachten hierin het ongerief zo klein mogelijk te houden door gebruik te maken van een kort toedieningsprotocol (max. 6 dagen) met Dextraan Sulfaat Sodium (DSS), een laag gehalte DSS, minimaal gewichtsverlies (veelal slechts op de laatste dag) en milde ontstekingen in de darm. De muizen krijgen gedurende vijf dagen al dan niet DSS in het drinkwater. Eén dag voor en drie dagen na deze wijziging van het drinkwater worden de dieren al dan niet voorbehandeld met anti-citrulline antilichamen of controle medium. Iedere dag wordt het gewicht en de hardheid en bloederigheid van

de ontlasting genoteerd. Na zes dagen worden de dieren gedood en het bloed, de darm en andere relevante weefsels en organen geïsoleerd. De aantallen dieren worden zo laag mogelijk houden door 1) het aantal groepen te beperken tot de meest noodzakelijke en 2) de aantallen muizen per groep te beperken tot het minimum om toch betrouwbare uitspraken te kunnen doen. Het ongerief dat de dieren zullen ondervinden zal mogelijk in de met anti-citrulline antilichamen behandelde groepen verminderd worden. Deze effecten bij elkaar, opgewogen tegen het belang van noodzakelijke medicatie voor de mens met IBD, zijn voor ons redenen om het onderzoek ethisch toelaatbaar te doen zijn in de muis, waarbij het ongerief in het dier tot een minimum beperkt zal blijven.

Titel studie: Conductie herstel en Hoog Frequente laesies

DEC nummer: 2013.II.06.064

In kaart brengen van de verdwijning van elektrische isolatie die optreedt na bewuste elektrische weefselbeschadiging aan de buitenzijde van het hart
Achtergrond: Hartritmestoornissen vormen een belangrijke oorzaak van ziekte en overlijden bij mensen. De behandeling hiervan kan d.m.v. medicatie en/of bewuste hartweefselbeschadiging m.b.v. katheters (ablatie) gebeuren. De huidige ablatietechnieken hebben vaak een onvoldoende langetermijnwerkzaamheid (door onvoldoende diepte en/of -grootte van het beschadigde weefsel), of een verhoogd complicatierisico. In de afgelopen vijf jaar heeft onze onderzoeksgroep een nieuwe ablatiemethode ontwikkeld, waarbij wel goede en diepe weefselbeschadiging gemaakt konden worden, en zo goed als geen complicaties optraden. Dit kan een belangrijke stap voorwaarts zijn in de behandeling van hartritmestoornissen. In het recente verleden hebben we onderzoek gedaan naar de mogelijkheid om met deze nieuwe behandelmethode de longvaten te isoleren (behandeling van mogelijk gevaarlijke hartritmestoornissen). Bij eerder onderzoek bleek dat deze methode geschikt was om longvaten elektrisch van het linker atrium te scheiden, maar dat na drie maanden bij ca. 50% van de behandelde vaten deze scheiding weer teniet gedaan was. Dit kwam o.a. omdat de catheter waarmee de behandeling plaatsgevonden had niet altijd goed tegen de wand van het hart aanlag.
Daarnaast kan er in het behandelde gebieden onbedoeld herstel van geleiding optreden. Op het hart, ter plaatse van de therapie zal er (zoals bedoeld) geen elektrische geleiding te meten zijn en zal in de loop van de tijd ook niet optreden. Het weefsel op enige afstand van de therapieplaats zal vlak na therapie geen/slechte geleiding laten zien, de verwachting is dat binnen enkele uren na therapie de geleiding geleidelijk weer toeneemt. Dit effect kan er bij patiënten voor zorgen dat de behandeling niet succesvol is. Om ervoor te zorgen dat dit soort lekkages in de geleiding niet aanwezig zijn, worden er bij patiënten na therapie nog ongeveer 30 minuten lang metingen gedaan, maar ondanks deze periode treden er nog steeds lekkages op.
Doel/hypothese: Elektrische isolatie van de longvaten met de huidige technieken bij mensen heeft een lange termijn succespercentage van ca. 50-70 %. Dit komt door onbedoelde ondiepe weefselbeschadiging en

herstelde geleiding van stroom tussen de longvaten en de linker boezem van het hart. Tevens bestaat bij de huidige behandeltechnieken het gevaar op vernauwing van de longvaten en beschadiging van zenuwen. De onderzochte nieuwe behandelmethode (irreversible electroporation) creëert diepe weefselbeschadiging, zonder bijwerkingen of schade. Dit is in meerdere dierproeven uitgebreid onderzocht en is/wordt wetenschappelijk gepubliceerd. Wij verwachten met de nieuwe behandelmethode veel betere langetermijnresultaten door diepere weefselbeschadiging en minder complicaties. Tijdens deze studie wordt geprobeerd in kaart te brengen hoe en hoe snel het herstel van geleiding optreedt in het behandelde gebied. Aan de hand van bevindingen tijdens voorgaande proeven is de verwachting is dat dit binnen een periode van zeven uur gebeurt.
Globale aanpak vraagstelling: Bij het varken willen we aan de buitenkant van het hart, op de linker hartkamer, de therapie toepassen. Dit wordt gedaan een manier die representatief is voor een eventuele latere stap naar de kliniek. Vervolgens wordt in en rond dit gebied de elektrische geleiding gemeten om te kijken hoe en hoe snel het stel van geleiding optreedt. Het onderzoek dient op een levend, kloppend hart te worden uitgevoerd omdat bepaalde biologische processen ervoor zorgen dat herstel van geleiding optreedt. Voor dit onderzoek zijn dierproeven noodzakelijk, omdat het een nooit eerder op mensen toegepaste techniek is en het hart na onderzoek verwijderd dient te worden. Met het varkenshart is reeds veel wetenschappelijke ervaring opgedaan, en is het meest geschikte model voor onze onderzoeksvraag. Indien onze vraagstellingen positief beantwoord worden is dit een grote stap in de richting van een compleet nieuwe benaderingswijze voor de behandeling van hartritmestoornissen.

Titel studie: The role of complement activation during myocardial ischemia/ reperfusion - role of T-cells

DEC nummer: 2013.II.06.065

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 wordt onderzocht 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. De verwachting is 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.

Titel studie: The role of complement activation during myocardial ischemia/ reperfusion - effectivity of a C5aR blocking peptide in reducing MI/R injury

DEC nummer: 2013.II.06.066

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. De verwachting is dat C5a bijdraagt aan ischemie/reperfusieschade en dat inhibitie van deze factor de schade beperkt, waardoor het hartinfarct kleiner zal zijn.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie behandelen we normale muizen met een stof die de receptor blokkeert, of met een placebo. 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: Validatie van gecreëerde transgene muislijnen

DEC nummer: 2013.II.06.067

De rol van calcium in de celkern van hartspiercellen tijdens hartziekte
Achtergrond: Hartziekten gaan vaak gepaard met remodellering van de hartspier. De veranderingen in genregulatie zijn te relateren aan veranderingen in calciumhuishouding in de hartspier. Wat echter de rol van calcium in de celkern is tijdens dit remodelleringsproces is onduidelijk.
Doel/hypothese: Doel is om met behulp van het ver-

kregen inzicht bestaande computermodellen van de calciumhuishouding in de hartspiercel te verbeteren en nieuwe aangrijpingspunten voor therapieën tegen hartziekte te vinden.
Globale aanpak vraagstelling: Door een fluorescent calcium reporter eiwit in de celkern van de hartspiercellen van muizen tot expressie te brengen, zal meer inzicht verkregen worden in de kinetiek van de calciumhuishouding tijdens hartziekte. Deze experimenten kunnen alleen uitgevoerd worden in proefdieren, aangezien een volledige bloedsomloop nodig is om hartziekte te kunnen bestuderen.

Titel studie: Het gebruik van adeno-associated virus om fluorescente reportereiwitten in het hart tot expressie te brengen

DEC nummer: 2013.II.06.068

Toepassing van adeno geassocieerde virussen om expressie van reportereiwitten in het hart te bewerkstelligen
Achtergrond: Hartfunctie wordt bepaalt door een aantal fysiologische parameters zoals calcium-ion concentratie en membraanpotentiaal in hartspiercellen. Om deze parameters te bestuderen wordt een nieuwe techniek gebruikt, optogenetics. Deze techniek is gebaseerd op het gebruik van in het lab gecreëerde fluorescente eiwitten. Deze eiwitten zijn gebaseerd op lichtgevende eiwitten uit een kwallensoort, en zodanig veranderd dat de hoeveelheid geproduceerd licht samenhangt met bijv. calcium of membraanpotentiaal. Hiermee is dus feitelijk een 'sensoreiwit' gemaakt. In deze studie willen we een nieuw soort sensoreiwitten toepassen om deze parameters te bepalen het muizenhart.
Doel/hypothese: Sensoreiwitten kunnen tot expressie gebracht worden door middel van een adeno geassocieerd virus (AAV). In deze studie zullen we deze methode opzetten en valideren.
Globale aanpak vraagstelling: AAVs zullen geïnjecteerd worden in de staartvene van muizen. Vervolgens zullen de muizen op verschillende tijdspunten na infectie opgeofferd worden. Het hart wordt verwijdert en onderzocht op de functie en expressie van de sensoreiwitten. Voor dit onderzoek is er geen andere optie dan het gebruik in muizen zoals voorgesteld.

Titel studie: Pilot study: Assessment of the microbiome constitution in healthy dog skin

DEC nummer: 2013.II.06.069

Pilot studie, bepaling van het microbioom van de gezonde honden huid
Achtergrond: Het microbioom, de verzameling van micro-organismen op/in de huid, is medebepalend voor enerzijds het in stand houden van omstandigheden die bijdragen aan een gezonde huid, anderzijds (met name bij verstoring van de normale samenstelling van de flora), voor processen die leiden tot Atopische Dermatitis (AD). De hond als doeldier dat door deze chronische huidontsteking kan worden aangedaan, maar ook als model voor deze ziekte bij de mens staat centraal in dit onderzoek. In deze pilotstudie worden de eerste stappen gezet naar inventarisatie van het microbioom in het

gezonde dier.
Doel/hypothese: Het bestuderen van het microbioom van de gezonde huid in honden. i) verschillen tussen verschillende locaties van de huid in de gezonde huid, ii) verschillen tussen vergelijkbare locaties van de huid op verschillende honden binnen een ras en tussen rassen.
Globale aanpak vraagstelling: Met behulp van swaps (wattenstokjes) wordt het microbioom van de huid bemonsterd. Het materiaal dat m.b.v. deze swap verzameld wordt, wordt onderworpen aan DNA isolatie. Met behulp van PCR reacties wordt daarna vastgesteld welke (grotere) groepen van micro organismen op de huid vertegenwoordigd zijn. In eerste instantie in gezonde honden (deze pilotstudie), in later stadium ook in honden die leiden aan AD. In deze pilot, worden de beschikbaar staande methodieken getest voor gebruik in de hond en wordt variabiliteit binnen en tussen individuen voor het eerst in kaart gebracht. Het gebruik van proefhonden wordt enerzijds gerechtvaardigd vanwege het feit dat de hond zowel doeldier als (human)model van deze ziekte is en anderzijds omdat het vaststellen van de rol van het microbioom in de gezonde en zieke huid alleen zinvol is in het doeldier zelf. Het gebruik van proefdieren is noodzakelijk om, in eerste instantie in dieren die onder gestandaardiseerde omstandigheden gehouden worden, technologie te testen en standaardgegevens te verzamelen. Gebruik van patiënten in dit stadium zou additionele variabiliteit introduceren.

Titel studie: Stress op jonge leeftijd zorgt voor vergrote vatbaarheid en intensiteit van koemelk allergie

DEC nummer: 2013.II.06.070

Stress op jonge leeftijd zorgt voor vergrootte vatbaarheid en intensiteit van koemelk allergie
Achtergrond: Koemelkallergie is een van de belangrijkste oorzaken van voedselallergie in volwassenen. In ontwikkelde landen lijden ongeveer 2 - 3% van de kinderen aan koemelk allergie. Bij jonge kinderen is het immuunsysteem nog niet volledig ontwikkeld waardoor ze meer vatbaar kunnen zijn voor het ontwikkelen van voedselallergieën. Hoewel de meeste kinderen uit deze allergie groeien voor hun vijfde levensjaar, zet de zo genoemde “IgE gemedieerde koemelk allergie” aan tot andere (voedsel)allergieën en zelfs tot astma. Gevolgen van koemelk allergie zijn meestal onmiddellijk merkbaar. Deze symptomen kunnen betrekking hebben op de huid, luchtwegen en het maagdarmkanaal, en kan zelfs lijden tot een systemische anafylactische shock. Het is bekend dat stress grote invloed heeft op de gezondheid en het welzijn van de mens, zowel geestelijk als lichamelijk. Het is meerdere keren aangetoond dat chronische stress een bijdrage levert tijdens allergische reacties en autoimmuun ziektes. Stress op jonge leeftijd, wanneer het lichaam en het immuunsysteem zich sterk ontwikkelen, kan nog meer invloed hebben dan op latere leeftijd.
Doel/hypothese: De verwachting is dat stress op jonge leeftijd de vatbaarheid en ernst van koemelkallergie kan vergroten.

Globale aanpak vraagstelling: Het is bekend dat stress grote invloed heeft op de gezondheid en het welzijn van de mens, zowel geestelijk als lichamelijk. Stress op jonge leeftijd, wanneer het lichaam en het immuunsysteem zich sterk ontwikkelen, kan nog meer invloed hebben dan op latere leeftijd. Bij jonge kinderen zijn de mucosale barrière en het immuunsysteem nog niet volledig ontwikkeld waardoor ze meer vatbaar kunnen zijn voor het ontwikkelen van ongewenste immuunreactiviteit tegen voedselproteïnen. Daarom wordt vroege inname van vast voedsel beschouwd als een risicofactor voor het ontwikkelen van voedselallergie. Om te onderzoeken hoe stress op jonge leeftijd het immuunsysteem, en dus de vatbaarheid en ernst van allergieën, beïnvloedt, induceren wij stress op jonge leeftijd bij muizen pups. Dit doen we in de vorm van maternale separatie. Dit model, waarbij de pups drie weken lang elke dag voor drie uur worden verwijderd van hun moeder, is een werkend en eerder gebruikt model. Nadat de stress is aangebracht, wordt koemelk allergie geïnduceerd in dezelfde muizen. Ook dit model is bekend en al eerder uitgevoerd. Als een gevolg van dit model zijn er meerdere koemelkallergie specifieke uitlezingen te doen bij de muizen. De uitlezingen tussen muizen die wel of geen stress hebben ontvangen naast het koemelkallergie model worden met elkaar vergelijken. Omdat we kijken naar een chronische toediening van stress en naar de ontwikkeling en de ernst van koemelkallergie en omdat het in dit onderzoek gaat om een interactie van verschillende systemen, is het gebruik van proefdieren noodzakelijk.

Titel studie: Development of a novel SSc model by engrafting NOD-SCID -IL2Rgnull with PBMC isolated from SSc patiënts

DEC nummer: 2013.II.06.071

Ontwikkeling van een nieuw gehumaniseerd model voor systemische sclerose

Achtergrond: Systemische sclerose (SSc) is een ernstige aandoening van de huid en interne organen. Het grootste probleem is verbindweefseling (fibrose) van deze organen hetgeen leidt tot een sterk verminderde functie waardoor strakke huid, wondjes, nier- en hart/long problemen ontstaan. Deze problemen zijn vaak ernstig en leiden tot pijn, moeheid maar ook vroeg overlijden. De oorzaak van SSc is niet opgehelderd maar onze groep heeft de afgelopen jaren aangetoond dat de zogenaamde plasmacytoide dendritische cellen een belangrijke rol spelen. Deze pDCs zijn zeer sterk verhoogd aanwezig in het bloed van patiënten en hebben een veranderde functie. Als belangrijkste hebben we aangetoond dat deze pDCs met name CXCL4 produceren. Steeds meer data laat zien dat CXCL4 mogelijk een centrale rol speelt in het ziekteproces. Er is bestaat geen medicatie voor deze groep patiënten. Door de vernieuwde inzichten in de pathogenese denken we dat het immuunsysteem een grote rol speelt, waardoor er nieuwe mogelijkheden voor medicatie ontstaan. Op dit moment zijn er nog geen diermodellen die het totale ziektebeeld van SSc weergeven. Het ontbreekt met name aan diermodellen die een goede voorspellende waarde hebben voor nieuwe therapeutica in de kliniek. Met het opzetten van een gehumaniseerd model voor SSc ontstaat de mogelijkheid

om de toegevoegde waarde van nieuwe therapeutica, waaronder antilichamen tegen CXCL4 en depletie van pDCs, in SSc te bestuderen.
Doel/hypothese: Het doel is om een gehumaniseerd model voor SSc op te zetten, waarmee we nieuwe therapeutica tegen de verstoorde pDCs in SSc kunnen targetten.
Globale aanpak vraagstelling: In het beschreven experiment zullen muizen geïnjecteerd worden met humane bloedcellen (PBMC's) van gezonde vrijwilligers en van patiënten met systemische sclerose (SSc). Vanuit de literatuur en onderzoekspartners weten we dat de cellen in deze muizen zullen uitgroeien. Dit bied de mogelijkheid om direct de cellen van de patiënten in vivo te bestuderen en een model te ontwikkelen om nieuwe therapieën te testen op humaan materiaal. Het uiteindelijke doel na het opzetten van het model zal zijn om dit model te gebruiken voor het remmen van plasmacytoide dendritische cellen (pDCs) en het chemokine CXCL4. Uit ons voorgaande onderzoek is gebleken dat de pDCs verhoogd zijn in de circulatie, het beenmerg en de huid van de patiënten en dat deze cellen proinflammatoire eiwitten maken waaronder CXCL4. We willen uiteindelijk bekijken of het remmen van de pDCs of CXCL4 als mogelijke therapie zou kunnen dienen voor SSc patiënten. Vrouwelijke muizen zullen al dan niet na bestraling worden geïnjecteerd met PBMCs. Bloed zal via een staartknip worden afgenomen op de gezette tijden. Na succesvolle transplantatie van de cellen zullen de muizen worden gedood. Bloed, lymfklieren, huid, beenmerg, longen, lever en milt zullen worden geïsoleerd en bestudeerd op de aanwezigheid van de dendritische cell subsets. Zoals boven beschreven is SSc een ziekte met een lang en pijnlijk ziektebeloop. Patiënten hebben extreme fibrose van de huid, waarbij ook de longen, slokdarm, nieren en hart - aangedaan kunnen zijn. De ziekte leidt tot een ernstige invaliditeit en vroege sterfte. De huidige medicatie is gericht op het vertragen van het ziekteproces, er is geen goede medicatie. Het verkrijgen van nieuwe inzichten draagt bij aan de ontwikkeling van nieuwe therapieën. De beperkte mate van ongerief weegt daarmee minder zwaar dan de kennis die verkregen kan worden.

Titel studie: Het effect van vaccinatie op de expressie van extracellulaire vesicles in bloed

DEC nummer: 2013.II.06.072

Bepalen van de productie van blaasjes door ontstekingscellen na vaccinatie
Achtergrond: Ontstekingscellen zijn in staat om blaasjes te produceren en uit te scheiden. Deze blaasjes zitten vol met informatie om de functie van andere ontstekingscellen te beïnvloeden, bijvoorbeeld te activeren of te remmen. In veel lichaamsvloeistoffen kunnen deze blaasjes worden gevonden. Hoewel dit goed onderzocht is met gekweekte cellen in het laboratorium, is de functie van deze blaasjes in het lichaam nog niet helemaal duidelijk. Een situatie waarbij ontstekingscellen een belangrijke rol spelen is bij vaccinatie. Er worden steeds nieuwe vaccins ontwikkeld, bijvoorbeeld tegen nieuwe ziekteverwekkers of om bestaande vaccins te verbeteren. Een van de redenen om vaccins te verbeteren is het feit dat in zeldzame maar ernstige gevallen vaccins kunnen bijdragen aan het ontstaan van reacties van het

immuunsysteem tegen lichaamseigen stoffen (auto-immuniteit). Er is nog maar weinig bekend over hoe dit precies veroorzaakt wordt. Met dit onderzoek willen we achterhalen wat er gebeurt met de productie van blaasjes door ontstekingscellen na vaccinatie. Dit zal kunnen leiden tot een beter inzicht in de functie van deze blaasjes in het lichaam en bij het regelen van verschillende aandoeningen waarbij ontsteking een belangrijke rol speelt. Bovendien zal gekeken worden of de blaasjes bepaalde eiwitten bevatten die een indicatie kunnen geven over de effectiviteit en de mogelijke veiligheid van een vaccin, om effectief en veilig gebruik in de toekomst te kunnen garanderen.
Doel/hypothese: Onderzoeken wat het effect is van verschillende, door mensen gebruikte vaccin-bestanddelen op de productie van blaasjes door ontstekingscellen. Op deze manier wordt inzicht verkregen in de mogelijke rol van deze blaasjes en kan achterhaald worden of de blaasjes informatie bevatten die iets zeggen over de effectiviteit en veiligheid van de ontstekingsreactie die het vaccin opwekt.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden eenmalig ingeënt met door mensen gebruikte vaccin-bestanddelen, waarna de effecten op de productie van blaasjes onderzocht zal worden. Om zo goed mogelijk de menselijke situatie na te bootsen, waarbij vele cellen van het immuunsysteem in een complex systeem samenwerken, zal het gebruik van muizen noodzakelijk zijn.

Vergadering 3 juli 2013

Titel studie: De expressie en functie van Toll-like receptoren op enterische neuronen

DEC nummer: 2013.II.07.074

De expressie en functie van immuun receptoren op neuronen
Achtergrond: Het afweersysteem herkent ziektekiemen, zoals bacteriën en virussen, door het gebruik van speciale receptoren, de zogenaamde Toll-like receptoren. Deze receptoren zijn aanwezig op zenuwcellen, maar hun functie is nog niet bekend. Mogelijk kunnen deze receptoren een brug vormen tussen het afweersysteem en het zenuwstelsel. Deze interactie kan een belangrijke rol spelen in verschillende chronische ontstekingsziekten en psychiatrische aandoeningen.
Doel/hypothese: De aanwezigheid en functie van Toll-like receptoren op zenuwcellen uit de darmen onderzoeken.
Globale aanpak vraagstelling: Zenuwcellen uit de darmen van muizen worden in kweek gebracht. Gekweekte neuronen zijn goed toegankelijk voor farmacologische manipulatie en geven de mogelijkheid om de rol van Toll-like receptoren in detail te onderzoeken. Eerder zijn goede resultaten behaald met een cellijn van deze cel soort. Om de biologische relevantie van deze resultaten te bevestigen, is het noodzakelijk om de belangrijkste experimenten ook uit te voeren met cellen die direct uit de muis komen.

Titel studie: Optimalisatie Hsp70 peptide vaccinatie tegen experimentele artritis III

DEC nummer: 2013.II.07.075

Inductie van regulatoire T cellen in reumatoïde artritis
Achtergrond: Stress, of "Heat shock", eiwitten spelen een belangrijke rol in 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: De immuunrespons in de chronische ontstekingsziekten, zoals reuma, colitis en diabetes, beïnvloeden door regulatoire T cellen te leren om dit te onderdrukken. De verwachting is dat door het aanmaken van deze regulerende afweercellen in patiënten (in ons geval muizen) de ziekte vermindert.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden met een fragment (peptide) van heat shock eiwitten geïnjecteerd 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 immuunresponse is het niet mogelijk dit te vervangen door bijvoorbeeld computermodellen. 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: In vivo validatie CD200 ligand en de rol bij perfusieherstel

DEC nummer: 2013.II.07.076

De rol van CD200 ligand tijdens vaatgroei en weefseldoorbloeding bij vaatvernauwing
Achtergrond: Collaterale vaatgroei (ook wel arteriogenese genoemd) is een natuurlijk proces in het lichaam waarbij bestaande niet-functionele vaten zich ontwikkelen tot functionele vaten om in het geval van slechte weefseldoorbloeding het weefsel te redden door de bloedtoevoer te herstellen (natuurlijke bypass). Verschillende factoren die betrokken zijn bij dit proces zijn al bekend, maar therapieën ontwikkeld vanuit deze stoffen hebben nog niet het gewenste resultaat opgeleverd. Het ontdekken van nieuwe factoren betrokken bij dit proces en verdere ontwikkelingen van nieuwe therapieën zijn zeer van belang voor deze groep patiënten. De rol van het eiwit CD200 ligand kan in dit proces bijdragen.
Doel/hypothese: Het onderzoeken van de rol van CD200 ligand-receptor in het proces van collateraalvorming en weefseldoorbloeding.
Globale aanpak vraagstelling: In het voorgaande onderzoek hebben we laten zien dat CD200 ligand berokken is bij vaatgroei. Muizen die dit eiwit niet meer hebben zijn geopereerd waarbij de beenslagader in de rechterachterpoot is afgebonden. De bloedtoevoer in deze muizen herstelde beter t.o.v. gewone muizen. Als proof of principle willen we nu laten zien dat het stimuleren van de receptor van dit eiwit juist het omgekeerde laat zien als extra bewijs voor de betrokkenheid van dit mechanisme in een muizenstam die goed perfusieherstel zal ver-

tonen na OK. Wildtype muizen zullen dezelfde operatie ondergaan gevolgd door een behandeling van CD200 receptor antilichaam op dag 0 vlak voor OK en dag 2 na OK. Controle groepen krijgen een behandeling met fysiologisch zout of een inactief antilichaam als controle. Herstel van de weefseldoorbloeding zal gemeten worden voor en na OK. Op dag 7 zullen de muizen worden getermineerd, waarna spierweefsel, bloed en beenmerg wordt verzameld voor karakterisatie. In deze studie zijn we genoodzaakt hetzelfde muismodel te gebruiken voor optimale vergelijking met eerder behaalde resultaten. Bovendien heeft onze eerdere ervaring geleerd dat dit diermodel zich uitstekend leent voor dit type onderzoek.

Titel studie: The effect of tamoxifen on the development of kidney fibrosis

DEC nummer: 2013.II.07.078

Het beschermde effect van tamoxifen bij de ontwikkeling van nierverlittekening

Achtergrond: Binnen ons lab hebben wij muizen met uniek DNA. Wij gebruiken binnen ons onderzoek een hulpmiddel (tamoxifen) om deze muizen genetisch aan te passen. Deze genetische aanpassing leidt tot een bescherming tegen verlittekening na toediening van nierschade in de muizen. Recent onderzoek laat echter zien dat dit hulpmiddel zelf ook beschermende eigenschappen heeft. Om nu te kunnen bepalen of het de genetische aanpassing is geweest of enkel het hulpmiddel is het van belang om muizen zonder dit unieke DNA met tamoxifen in te spuiten. In deze muizen zal deze genetische aanpassing dan ook niet plaatsvinden en valt te bekijken in hoeverre het hulpmiddel zelf verantwoordelijk is voor de beschermende effecten welke wij zien.
Doel/hypothese: In de studie opzet zoals wij deze hebben gebruikt in eerder onderzoek hebben wij gebruik gemaakt van een washout periode. Dit is een periode waarin de muis na injectie van het hulpmiddel de tijd krijgt het middel weer kwijt te raken (dit gebeurt door middel van verwerking in de nieren en de lever). Om deze reden verwachten we dan ook dat het hulpmiddel geen effect meer heeft op de ontwikkeling van de nierverlittekening.
Globale aanpak vraagstelling: Het hulpmiddel wordt aan normale zogenoemde “wild type” muizen toegediend. Hierna volgt een washout periode om het hulpmiddel weer kwijt te raken (dit is bij eerdere experimenten in de muizen met het unieke DNA ook gedaan, waardoor de studies met elkaar vergelijkbaar zijn). Vervolgens zal een drietal nierschade modellen toegepast worden op de muizen om de invloed van het hulpmiddel te bestuderen. Helaas is de inzet van proefdieren hierbij noodzakelijk aangezien in proefdieren tijdens eerder onderzoek is aangetoond dat onder andere omstandigheden het hulpmiddel beschermende effecten heeft. Onder de door ons gebruikte omstandigheden is dit niet bekend. Om nu te kunnen zeggen of ons eerdere onderzoek op valse aannamen berust is deze extra studie noodzakelijk en dienen hier muizen voor gebruikt te worden.

Titel studie: Het therapeutische effect van de vaatstabilisator CXE1 op hind-limb reperfusie in een muizen model van Hind-limb ischemia

DEC nummer: 2013.II.07.079

Het therapeutische effect van de vaatstabilisator CXE1 op herstel van doorbloeding in de achterpoot van een muis na vaatschade

Achtergrond: Vaatproblemen vormen wereldwijd een belangrijk en toenemend medisch probleem dat ten grondslag ligt aan een breed scala van veel voorkomende ziekten, waaronder cardiovasculaire ziekten, nierziekten en perifeer vaatlijden. In dit project wordt onderzocht of een bepaald eiwit (CXE1) een beschermend effect heeft na vasculaire schade en herstel bevordert. CXE1 is betrokken bij het contact tussen de cellen die de binnenkant van bloedvaten bekleden (endotheelcellen) en de cellen die daaromheen zitten en stevigheid aan de vaten verlenen (pericyten). Een van de componenten van vaatschade is het wegvallen van dit contact in de van bloeddoorstroming afgesloten gebieden. Na het wegvallen van doorstroming degenereren de vaten in het afgesloten gebied, wat later herstel tegenwerkt.
Doel/hypothese: Door het toedienen van CXE1 hopen we dat een afgesloten vaatbed in de poot van een muis langer in stand blijft. De verwachting is dat de doorbloeding van de achterpoot in de muis daardoor sneller herstelt nadat deze is afgesloten.
Globale aanpak vraagstelling: De slagader die de achterpootjes van muizen van bloed voorziet wordt operatief dichtgemaakt in aantal muizen, waardoor doorbloeding (gemeten met een laser doppler) afneemt. Bij een deel van de muizen wordt dan CXE1 toegediend. Doorbloeding wordt middels laser doppler gevolgd en het is de verwachting dat deze sneller en beter herstelt in de met CXE1 behandelde muizen.

Titel studie: De rol van TLR2 in de inflammatoire reactie en fibroblast functie in gedilateerde cardiomyopathie

DEC nummer: 2013.II.07.080

Rol van Toll-like receptor (TLR)2-eiwit in de ontwikkeling van hartfalen

Achtergrond: Ontdekt is dat wanneer TLR2 afwezig is in de muis, er minder ontsteking is er en minder hartfalen optreedt na een hartaanval. Een verklaring hiervoor is dat er minder kwaadaardige afweercellen naar het hart zich verplaatsen. In tegenstelling tot wat de verwachting was, blijkt dat er toch meer afweercellen in het hart aanwezig te zijn. De vraag is wat het karakter is van deze cellen. Daarnaast is het aantal fibroblasten, een type steuncel in het hart, afgenomen in de afwezigheid van TLR2. Het is belangrijk om uit te zoeken hoe TLR2 precies voor deze veranderingen zorgt, merendeels omdat de vermeerdering in afweercellen in het hart niet is wat we zouden verwachten. Wanneer de functie van TLR2 is achterhaald, kan dit tot de ontwikkeling van nieuwe medicijnen leiden om het hart beter te laten functioneren.
Doel/hypothese: Het doel is om het mechanisme van TLR2 op de aantrekking van afweercellen naar het hart en het effect op de functie van fibroblasten te achterhalen. De hypothese is dat afwezigheid van TLR2 zorgt voor een verandering in de samenstelling van de afweer-

cellen in het hart na schade en dat TLR2 in fibroblasten belangrijk is voor het aantrekken van beschermende afweercellen naar het hart toe.
Globale aanpak vraagstelling: Er wordt gebruik gemaakt van muizen die wel en geen TLR2 kunnen aanmaken. Zodoende kan het effect van TLR2 op hartschade specifiek bestudeerd worden. Helaas is het gebruik van proefdieren onontkomelijk. De ontwikkeling van hartfalen en het proces na een hartaanval zijn dermate ingewikkeld, dat het onmogelijk is om deze processen in het lab op een petrischaal of in een computermodel na te bootsen. De laboratorium- en computermodellen werken veelal met 1 of 2 celtypen, terwijl er in werkelijkheid meer dan 8 cellen betrokken zijn bij de ontwikkeling van hartfalen en het herstel na een hartaanval. Deze cellen hebben weer onderling een enorme invloed op elkaar, in een bepaalde volgorde in de tijd. Door de plaats-, tijds- en celafhankelijkheid in deze processen is het gebruik van proefdieren noodzakelijk. In de experimenten ondergaan de muizen zuurstoftekort en drukbelasting van het hart. Hierdoor ontstaat schade en een ontsteking die op den duur tot hartfalen leidt. Hierna zullen de afweercellen in het hart, de lymfeknopen, het bloed en de milt bestudeerd worden. Verder zal het effect van TLR2 in fibroblasten geïsoleerd uit het hart bestudeerd worden om zo het werkingsmechanisme van TLR2 te ontrafelen.

Titel studie: Effect van fibronectine-EDA op fibroblast functie in hypertrofische en gedilateerde cardiomyopathie

DEC nummer: 2013.II.07.081

Rol van EDA-eiwit in de functie van steuncellen die vergroting en verstijving van het hart veroorzaken
Achtergrond: Na onderzoek is ontdekt dat een eiwit genaamd “EDA” in gezonde hartspiercellen voorkomt wanneer deze onder grote druk moeten werken na een hartaanval. In eerder onderzoek is aangetoond 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. Doel is nu om uit te zoeken op welke manier EDA de steuncellen in het hart nadelig beïnvloedt, waardoor verstijving en vergroting van de hartkamers optreedt. Deze kennis zal ons in staat stellen om nieuwe medicijnen te ontwikkelen die verstijving en vergroting van het hart tegengaat.
Doel/hypothese: Het doel is om de functie van EDA te ontrafelen in steuncellen die een rol spelen bij verstijving en vergroting van het hart. De verwachting is dat wanneer EDA niet aangemaakt kan worden of geremd wordt, deze steuncellen minder ontsteking en littekenweefsel veroorzaken.
Globale aanpak vraagstelling: We zullen in steuncellen, geïsoleerd uit muizen, bestuderen wat voor effecten EDA heeft op celfunctie en biologische processen. Deze

steuncellen moeten uit het hart van muizen geïsoleerd worden, omdat deze niet op andere manieren met dezelfde eigenschappen te verkrijgen zijn.

Titel studie: Adequate reconstitutie van mucosale mestcellen in de luchtwegen

DEC nummer: 2013.II.07.082

Nieuwe methodes voor het terug brengen van mestcellen in de longen en neuzen van mestcel deficiënte muizen
Achtergrond: Het reconstitueren van bindweefsel mestcellen, die voornamelijk in de huid en buikholte zitten, bleek vrij gemakkelijk mogelijk te zijn. Helaas is dit niet het geval voor de mucosale mestcellen. Deze cellen zitten voornamelijk in de luchtwegen en de darmen.
Tot nu toe is het nog niemand gelukt mucosale mestcellen te reconstitueren in de neusholte, hoewel het wel is aangetoond dat mestcel deficiënte muizen minder heftig reageren in hooikoorts modellen. Dit komt waarschijnlijk door de afwezigheid van mestcellen in de neus van deze muizen, maar kan alleen worden bewezen door succesvolle reconstitutie. Het reconstitueren van mestcellen in de longen is al vaker geprobeerd maar leidde altijd tot een verhoging van mestcel aantallen in de long tot ongeveer 500% tegenover staande van wild type waardes. Dit kan dus niet worden gezien als een succesvolle reconstitutie.
Normaliter wordt er een reconstitutie tijd aangehouden van zes weken. In deze zes weken kunnen de mestcellen migreren van de plaats van toediening naar de plaats van interesse. Wij hebben een indicatie dat we de over-reconstitutie kunnen tegengaan door de reconstitutie tijd te verlengen en de mestcellen de kans te geven weer uit de long te migreren, aangezien ze daar in te hoge aantallen aanwezig zijn.
Doel/hypothese: Lokale toediening van mestcellen in de neus (retro orbitaal of topicaal) zorgt voor adequate reconstitutie van mucosale mestcellen in deze locatie. Een langere reconstitutie tijd (tot 18 weken) leid tot normale mestcel aantallen in de longen.
Globale aanpak vraagstelling: Het is belangrijk om te weten dat mestcel aantallen in de longen laag zijn en in het epithelium van de neus hoog. Helaas leid de meest gangbare vorm van reconstitutie (staart injectie met mestcellen) tot over-reconstitutie in de longen van muizen en tot geen reconstitutie van de mestcellen in de neus. Om toch mestcellen terug te kunnen brengen op een adequate manier (geen over of onder reconstitutie) proberen we nieuwe en nog niet beschreven methodes. Omdat via een staart injectie de mestcellen niet de neus bereiken van een mestcel deficiënte muis, injecteren we in een bloedvat dichter bij de neus. Een injectie achter het oog is een veel voorkomende en pijnloze methode van injecteren. Het is onze hypothese dat een injectie in een bloedvat dichter bij de neus leidt tot succesvolle reconstitutie in de neus van de muizen. De kans op succesvolle reconstitutie wordt vergroot door het herhalen van de reconstitutie tot maximaal drie keer. Het is ook mogelijk mestcellen topicaal (op de huid/oppervlakte) aan te brengen. Wij willen een hoge concentratie mestcellen in een klein volume (20ul) aanbrengen in de neusholte van mestcel deficiënte muizen voor 5 min. Tijdens deze 5 minuten is de luchtweg omgeleid van de trachea via een buisje die door de mond loopt naar

buiten. Het is belangrijk de luchtstroom door de neus stil te leggen voor deze periode om de mestcellen een kans te geven te migreren in het epithelium van de neus. Om over- en onder-reconstitutie te voorkomen worden er verschillende behandel strategieën meegenomen in dit experiment. Het kan zo zijn dat één reconstitutie injectie te weinig is, terwijl drie injecties voor over-reconstitutie zorgt. Zoals eerder gemeld zijn de mestcel aantallen in de longen laag terwijl een reconstitutie poging, na zes weken, leid tot over-reconstitutie. Door het micro-milieu van de longen verwachten wij dat na langere reconstitutie periodes het aantal mestcellen normaal waardes aannemen. Het gebruik van mestcel deficiënte muizen in allergie modellen heeft ons de afgelopen decennia veel bijgebracht en de belangrijke rol van mestcellen op de kaart gezet. In tegenstelling tot bindweefsel mestcellen is het tot op heden niemand gelukt mestcellen adequaat terug te brengen in de neus en longen van mestcel deficiënte muizen. Het terug brengen van mestcellen in deze locaties is naast een belangrijke controle stap, een erg belangrijke methode om mechanisme van verschillende ziekten beter te gaan begrijpen. Het wordt dan mogelijk mestcellen met een gen knock out (coderend voor een cytokine of receptor) terug te brengen in het lichaam en te kijken naar de rol van dat gen in mestcellen. Dit systeem moet worden gedaan in proefdieren en kan niet worden gedaan in In Vitro studies of in mensen.

Titel studie: Pilot study: microbiome constitution in canine atopic dermatitis before and after topical treatment for AD

DEC nummer: 2013.II.07.083

Pilot studie, bepaling van het microbioom van de huid in honden met AD in vergelijking met dat van de gezonde honden huid, voor en na behandeling met shampoo met antibiotica

Achtergrond: Het microbioom, de verzameling van micro-organismen op/in de huid, is medebepalend voor enerzijds het in stand houden van omstandigheden die bijdragen aan een gezonde huid, anderzijds (met name bij verstoring van de normale samenstelling van de flora), voor processen die leiden tot Atopische Dermatitis (AD). De hond is doeldier dat door deze chronische huidontsteking kan worden aangedaan, maar staat daarnaast ook model voor deze ziekte bij de mens. In deze pilot studie worden de eerste stappen gezet naar inventarisatie van het microbioom in het AD dier in vergelijking met het gezonde dier en bepaling van het effect van therapie (verandering in het microbioom) met shampoo met antibiotica.

Doel/hypothese: Het bestuderen van het microbioom van de AD huid in honden in (1) vergelijking met de gezonde huid en (2) in vergelijking met het microbioom van de klinisch lesionale en niet-lesionale AD huid. (3) Het bepalen van de effectiviteit van behandeling met shampoo met antibiotica (verandering in het microbioom). (4) Bepaling van de dynamiek van het microbioom na afloop van behandeling. (5) Bepaling van productie

van antimicrobiële peptiden (AMPs; kleine eiwitten die bacterie dodend werken) en boodschapper moleculen (cytokines) voor en na behandeling.
Globale aanpak vraagstelling: Met behulp van swaps (wattenstokjes) wordt het microbioom van de huid bemonsterd. Het materiaal dat m.b.v. deze swap verzameld wordt, wordt onderworpen aan DNA isolatie. Met behulp van PCR (polymerase chain reaction; een moleculair biologische techniek) wordt daarna vastgesteld welke (grotere) groepen van micro-organismen op de huid vertegenwoordigd zijn. Dit gebeurt zowel in AD als in gezonde honden op verschillende locaties op de huid, voor en na therapie. Daarnaast worden een beperkt aantal biopten genomen ter bepaling van AMP-productie en productie van cytokines. In deze pilot, worden de beschikbaar staande methodieken getest voor gebruik in de hond en wordt variabiliteit binnen en tussen individuen voor het eerst in kaart gebracht. Enerzijds wordt het gebruik van gezonde honden en AD proefhonden gerechtvaardigd vanwege het feit dat de hond doeldier (patiënt) is. Anderzijds kan deze ziekte in de hond ook model staan voor diagnostiek en behandeling van AD in de mens. Het gebruik van proefdieren is noodzakelijk om in eerste instantie in dieren die onder gestandaardiseerde omstandigheden gehouden worden technologie te testen en standaard gegevens te verzamelen. Gebruik van patiënten in dit stadium zou additionele variabiliteit introduceren.

Titel studie: Analyzing immune activating mechanism of DNA tattoo vaccination

DEC nummer: 2013.II.07.084

Analyseren van immuun activeringsmechanisme van DNA tattoo vaccinatie
Achtergrond: Tegen verschillende infectieziektes bestaan geen goede vaccins. De oorzaak hiervoor is dat de algemeen gebruikte vaccinatiestrategieën in geval van deze infectieziektes slecht werken, met name omdat deze ziekteverwekkers zich in cellen verstoppen. Er zijn dus nieuwe vaccinatiestrategieën nodig, die m.n. afweer tegen in cellen overlevende ziekteverwekkers moeten opwekken. Dit is mogelijk door zogenaamde CD8 T cellen, een bepaald type afweercel, te activeren. Uit eerder onderzoek is gebleken dat het zeer oppervlakkig tatoeëren van de huid genoeg is om deze cellen te activeren en zo bescherming te bieden. Het is echter niet bekend hoe dit precies werkt. Om in de toekomst beter de immuunrespons te kunnen sturen, is er meer onderzoek naar het werkingsmechanisme van deze methode nodig.
Doel/hypothese: Het doel is om meer kennis te ontwikkelen van een potentiële vaccinatiestrategie, die gebruikt kan worden om goede, CD8 T cel activerende vaccins te ontwikkelen. Voordat we dit kunnen doen moeten we echter eerst weten hoe de vaccinatiemethode precies werkt zodat we ook zeker weten dat er geen onverwachte risico's zullen zijn.
Globale aanpak vraagstelling: De vaccinatiestrategie hebben we al met succes kunnen herhalen. Voordat we echter verder kunnen gaan met vaccin ontwikkeling

moeten we precies weten hoe het werkt. Hiervoor zijn muizen studies nodig die als model voor mensen kunnen dienen.

Titel studie: A large Animal Model for Pre-Clinical Assessment of Skeletal Muscle Regenerative Therapies

DEC nummer: 2013.II.07.085

Stamcel en/of groeifactoren therapie als nieuwe regeneratieve behandeling van skeletspier schade
Achtergrond: Aandoeningen van de skeletspieren leiden op jonge leeftijd al tot ernstige problemen met mobiliteit en ademhaling. Een van de erfelijke vormen van skeletspier dystrofie, ofwel afsterven van skeletspieren, is op basis van een genetische afwijking en staat bekend als Duchenne/Becker's ziekte. Op dit moment overlijden patiënten met Duchenne al op jonge leeftijd door complicaties van kunstmatige beademing omdat het middenrif zelf te zwak is om adem te halen. Er bestaat nog geen behandeling voor deze ziekte.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om nieuwe therapieën te testen die in het laboratorium en in kleine proefdieren al bewezen effectief zijn gebleken om de skeletspieren weer opnieuw op te bouwen (regeneratie). Indien dit in een varkensmodel voor skeletspier schade, wat erg lijkt op dat van de mens, ook effectief blijkt te zijn, brengt deze studie hoop voor Duchenne patiënten op een behandeling die voor het eerst in staat zou zijn om het ziektebeeld te verbeteren.
Globale aanpak vraagstelling: Eerst zal d.m.v. een pilotstudie bepaald worden welk model van skeletspier schade het beste gebruikt kan worden om de nieuwe therapieën te testen. In tweede instantie zullen wij de volgende experimentele behandelingen testen, die bestaan uit de toediening van stamcellen van de skeletspier zelf of bepaalde groeifactoren die de groei van stamcellen kunnen stimuleren. De studieopzet die wij hierbij gebruiken is een gerandomiseerde, geblindeerde studie. Zo zal elk dier worden gerandomiseerd naar een van de behandelgroepen, zonder dat de onderzoeker zelf weet welke behandeling dat is.

Titel studie: Role of ADAR1 signaling reverse left ventricular remodeling after pressure overload

DEC nummer: 2013.II.07.086

De rol van ADAR1 eiwit in de groei van hartspiercellen gedurende hartfalen
Achtergrond: Data uit onze groep heeft uitgewezen dat het eiwit ADAR1 hoogst waarschijnlijk mede verantwoordelijk is voor de groei van hartspiercellen gedurende hartfalen. Door het eiwit ADAR1 specifiek uit hartspiercellen van muizen te verwijderen en het hart aan verhoogde werkdruk te onderwerpen, wordt hartfalen nagebootst in deze muizen. Ook bij wildtype muizen wordt hartfalen geïnduceerd. Door echocardiografie wordt de functie van deze harten gemeten en bepaald of lagere activiteit van het eiwit ADAR1 in het hart tot minder hartspiercel groei en functie behoud kan leiden.
Doel/hypothese: Dit onderzoek heeft als doel om de mechanismen achter het herstel van de structurele groei van hartspiercellen gedurende hartfalen in kaart te brengen.

We verwachten dat het specifiek weghalen van het eiwit ADAR1 in hartspiercellen onder verhoogde werkdruk zal leiden tot remming van hartspiercel groei en beter functie behoud van het hart.
Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek gebruiken we muizen waarbij we hartfalen nabootsen door de werkdruk op het hart te verhogen. Hierbij gebruiken we muizen die een normale en verlaagde expressie hebben van het eiwit ADAR1 in de hartspiercel. Helaas is er vooralsnog geen goed alternatief, omdat cellen in celkweek niet de situatie kunnen nabootsen die betrouwbare informatie geven over de reactie van het hart op verhoogde werkdruk. Dit proces is namelijk afhankelijk van de complexe interacties tussen de onderlinge organen in het lichaam en derhalve niet reproduceerbaar in cellijnen. Hierdoor is het gebruik maken van dieren en onmisbare stap voor deze studie.

Vergadering 21 augustus 2013

Titel studie: Instandhouding tekenkolonies

DEC nummer: 2013.II.08.087

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 de mens en de ziekte bloedwateren bij de hond. De manier waarop teken ziekten overdragen is lang niet altijd duidelijk en daarom wordt er in dit onderzoek gekeken of speeksel en/of feces besmet zijn 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 teken) en runderen (volwassen teken). Vervolgens worden de schone teken kunstmatig geïnfecteerd in het lab door middel van 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 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.

Titel studie: Anti-aritmische effect van GS458967

DEC nummer: 2013.II.08.088

Is GS458967 in staat de repolarisatie reserve te versterken en hartritmestoornissen te voorkomen?
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. 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 (hond met een chronisch Atrio-Ventricular-blok) 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. GS458967 is een specifieke blokker van het late natrium kanaal. Verhoogde activiteit van dit kanaal lijkt verantwoordelijk te zijn voor de verminderde repolarisatie reserve bij patiënten met hartfalen. Minder repolarisatie reserve kan betekenen hartritmestoornissen. Met het toedienen van dit medicament hopen we een verbeterde repolarisatie te kunnen bewerkstellen, met andere woorden is GS458967 effectief tegen hartritmestoornissen.
Doel/hypothese: 1) Bepalen of GS458967 effectief is tegen hartritmestoornissen in het cAVB hondenmodel. 2) Bepalen of de medicamenten flecaïnide, DHE en GS458967 Torsade de Pointes hartritmestoornissen kunnen 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 op 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 GS 458967 toegediend worden om de hartritmestoornissen te stoppen. Ook zal gekeken worden of GS458967, DHE en flecaïnide hartritmestoornissen kan

opwekken. GS458967, DHE, flecaïnide zullen in elk dier getest worden met tussenpozen van minimaal 2 weken. Alle procedures zullen plaatsvinden onder narcose.

Titel studie: The influence of pericyte produced CTGF in renal models of fibrotic disease

DEC nummer: 2013.II.08.089

De invloed van door pericyten geproduceerde CTGF binnen de ontwikkeling van nierfibrose

Achtergrond: In eerder onderzoek hebben we gezien dat bindweefselgroeifactor, in het Engels connective tissue growth factor (CTGF), een belangrijke factor is binnen de ontwikkeling van nierverlittekening. Ook hebben we gezien dat pericyten (steuncellen van de bloedvaten) CTGF maken en dat zij ook een grote bijdrage leveren aan nierverlittekening. Nu vragen wij ons af of het wellicht specifiek de door pericyten geproduceerde CTGF is welke verantwoordelijk is voor de ontwikkeling van nierverlittekening.

Doel/hypothese: Wij vermoeden dat de hoeveelheid verlittekening in beschadigde nieren afneemt wanneer de pericyten in die nier geen CTGF meer kunnen maken.

Globale aanpak vraagstelling: Om onze hypothese te testen zullen wij gebruik maken van genetisch aangepaste muizen. De muizen die wij gebruiken kunnen specifiek in de pericyten geen CTGF meer maken. In deze muizen brengen wij schade toe aan de nieren en kijken wij naar de vorming van littekenweefsel. De hoeveelheid littekenweefsel vergelijken wij met de hoeveelheid in de beschadigde nieren van normale niet genetisch aangepaste muizen. Omdat nierverlittekening een ingewikkeld samenspel is van vele factoren en celtypen door de tijd heen, is het helaas noodzakelijk dit in diermodellen voor nierziekten te onderzoeken. voor nierverlittekening bestaat tegenwoordig nog geen effectief geneesmiddel en onderzoek hiernaar is dan ook van groot belang mede omdat de hoeveelheid patiënten met nierlijden groot is en toeneemt.

Titel studie: Effect van galaco-oligosaccharide alleen en in combinatie met budesonide in een huisstofmijt geinduceerd allergie model

DEC nummer: 2013.II.08.090

Effecten van specifieke suikers alleen of in combinatie met corticosteroïden in een huisstofmijt geïnduceerd muizen allergie model

Achtergrond: Astma is een chronische ontstekingsziekte van de luchtwegen, die gekarakteriseerd wordt door veranderingen in het longweefsel. Patiënten met astma worden behandeld met corticosteroïden die zelf ook ernstige bijeffecten kunnen hebben. Prebiotica zijn specifieke suikers die een stimulerend effect hebben op de darmflora. Studies hebben aangetoond dat het effect van deze suikers op de bacteriën in de darm een goede antiallergische reactie geeft. De laatste jaren is er overtuigend bewijs gevonden dat het type darmbacteriën dat de darmen bevolkt kan bijdragen aan het onderdrukken of juist induceren van ziekten. In eerdere publicaties hebben wij al aangetoond dat speciale diëten die aan muizen werden gegeven, de allergische reacties kunnen onderdrukken. Dit heeft zich zelfs vertaald in een klinische toepassing bij baby's. Van oligosachariden (het voedsel

voor de bacteriën) is bekend dat bepaalde bacteriën daar goed van groeien terwijl andere er juist minder goed van gaan groeien. Door het type oligosacharide zou de darmflora in positieve zin bevolkt kunnen worden en ziektebeelden zoals allergie kunnen onderdrukken.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het bestuderen van de mogelijke preventieve effecten van oligosachariden alleen of in combinatie met corticosteroïden op het ontwikkelen van allergische astma. Om zo dicht mogelijk de situatie in astmapatiënten na te boosten, maken we in deze studie gebruik van een huisstofmijt geïnduceerd astma muismodel.
Globale aanpak vraagstelling: Net zoals bij de mens zullen de proefdieren aan een lichaamsvreemde stof worden blootgesteld, in dit geval huisstofmijt. De dieren worden na proefdieren een aantal maal blootgesteld te zijn aan huisstofmijt allergisch en ontwikkelen astma. Tijdens het experiment krijgen de dieren een controle dieet of een dieet van oligosachariden (specifieke suikers) alleen of in combinatie met corticosteroïden. Aan het eind van het experiment wordt de luchtwegweerstand gemeten en wordt er gekeken naar de mate van ontsteking in de longen. 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 structuur verandering van de luchtwegen.

Titel studie: Optimalisering lever stamcel transplantatie efficiëntie in een muismodel-pilot ter bepaling van de optimale NTBC dosering

DEC nummer: 2013.II.08.091

Optimalisering lever stamcel transplantatie efficiëntie in een muismodel
Achtergrond: Wereldwijd lijden 170 miljoen mensen aan chronisch leverfalen. Levercirrose is de doodsoorzaak van 3.5% van de wereldbevolking. Levertransplantatie is de uiteindelijke behandeling voor leverfalen. Dit is een grote operatie, die geassocieerd is met vele en potentieel ernstige complicaties, tot en met de dood. Levenslange immuunsuppressie is nodig en dit gaat gepaard met toxiciteit, infectieuze complicaties en het ontstaan van maligniteiten. Daarnaast is er een tekort aan transplantatie levers. Lever stamcel transplantaties vormen een nieuw alternatief voor levertransplantaties voor patiënten met leverfalen. Lever stamcellen kunnen eindeloos opgekweekt worden in het laboratorium, waardoor er geen tekort is. Bovendien worden ze toegediend via een bloedvat en is een grote operatie niet nodig. Lever stamcellen zijn minder immunogeen, waardoor de verwachting is dat minder immuunsuppressie nodig is. Tot slot zouden lever stamcellen genetisch gemodificeerd kunnen worden waardoor er unieke behandelmogelijkheden ontstaan voor veel verschillende (lever-) ziekten. De lever stamcel is recent door onze groep geïdentificeerd in zowel muis als mens. We hebben laten zien dat lever stamcel transplantatie in muizen mogelijk is, maar de transplantatie efficiëntie is nog onvoldoende. De hui-

dige aanvraag betreft een deelproject van het onderzoek gericht op het opzetten van een humaan lever stamcel transplantatie programma.
Dit deelproject richt zich op optimaliseren van de transplantatie efficiëntie tot klinisch relevant niveau.
Doel/hypothese: Bepalen van de benodigde medicamenteuze lever behandeling om in een muismodel voldoende leverschade te bewerkstelligen om een geschikt micromilieu voor stamcellen te creëren, met voldoende tijd voor differentiatie van de stamcellen tot functionele levercellen.
Globale aanpak vraagstelling: Voor translatie van lever stamcel transplantaties naar de mens is verbetering nodig van de transplantatie efficiëntie in een proefdier model. In dit experiment wordt gezocht naar de optimale medicamenteuze inductie van leverschade voor efficiëntere transplantatie. We zullen hiervoor 4 FAH-/- muizen (beproefd diermodel voor leverschade) gedurende twee weken blootstellen aan een verlaagde dosering van het lever beschermende medicijn NTBC, gevolgd door transplantatie met gezonde (FAH+/+) levercellen terwijl de NTBC in de verlaagde dosering nog 14 dagen doorgegeven wordt. 30 Dagen na transplantatie worden de muizen gedood en onderzocht op transplantatie efficiëntie. Naar aanleiding van het geobserveerde effect wordt beoordeeld of een andere dosering NTBC in dezelfde proefopzet onderzocht moet worden in vier volgende muizen. In totaal zullen maximaal 3 doseringen onderzocht worden ter bepaling van de optimale NTBC dosering. Gezien de vele lokale en systemische factoren die van belang zijn voor effectieve transplantatie, kan dit niet in vitro onderzocht worden en zijn we aangewezen op een diermodel.

Titel studie: Identificatie en karakterisatie van mestcel vesicles

DEC nummer: 2013.II.08.092

Regulatie van de afweerreactie d.m.v. membraanblaasjes afkomstig van mestcellen
Achtergrond: Voor een goede werking van het afweersysteem is communicatie tussen verschillende typen immuuncellen essentieel. Een van deze celtypen, de zogenaamde 'mestcel', kan de werking van andere immuuncellen activeren of remmen en kan op die wijze ook verschillende immuun-gemedieerde ziekten beïnvloeden. De wijze waarop mestcellen deze regulerende functie uitoefenen is onvoldoende bekend. In deze studie wordt de rol van minuscule membraanblaasjes afkomstig van mestcellen in de regulatie van de afweer bestudeerd. Deze studie zal leiden tot nieuwe inzichten op het gebied van immuuncel communicatie en de wijze waarop mestcellen betrokken zijn bij de regulatie van het afweersysteem.
Doel/hypothese: De studie richt zich op het ophelderen van de functie van (verschillende typen) membraanblaasjes die worden afgegeven door mestcellen. Mestcellen zijn van belang voor het initiëren en in standhouden van een ontstekingsreactie, maar kunnen ook betrokken zijn bij de remming ervan. De membraanblaasjes zullen worden gekarakteriseerd wat betreft de inhoud alsook de invloed die ze hebben op andere immuuncel-

len. De resultaten zullen leiden tot een beter inzicht in de rol van mestcellen in een ontstekingsreactie en in de communicatie tussen afweercellen. Dit zal bijdragen aan de ontwikkeling van therapeutische toepassingen van deze blaasjes in immuungemedieerde- en gerelateerde ziekteprocessen.
Globale aanpak vraagstelling: Primaire mestcellen worden uit diverse organen van de muis (beenmerg, long, milt, peritoneale holte) gekweekt en al dan niet geactiveerd om de diversiteit in de typen membraanblaasjes te onderzoeken. Deze blaasjes zullen worden geanalyseerd op hun inhoud en op het effect dat ze hebben wanneer ze worden toegevoegd aan andere immuuncellen. Voor deze experimenten zijn op onze afdeling diverse analysetechnieken en in vitro modelsystemen ontwikkeld. In deze modelsystemen wordt de interactie tussen verschillende afweercellen bestudeerd. Door hieraan membraanblaasjes afkomstig van mestcellen toe te voegen, kunnen we het functionele effect van de blaasjes bestuderen. De muizen die aangevraagd worden in deze studie zijn nodig als celdonor voor de diverse mestcellen die gekweekt moeten worden. Hiertoe worden de muizen geëuthanaseerd, waarna vervolgens beenmerg en andere organen geïsoleerd worden uit het dier. Van deze organen wordt een celsuspensie gemaakt en gekweekt in groeimedium met specifieke groeifactoren. Na 3-4 weken zijn deze cellen uitgerijpt tot mestcellen. Omdat we grote hoeveelheden mestcellen kunnen kweken uit relatief weinig muizen, blijft het aantal benodigde dieren zeer beperkt. Daarnaast is het ongerief voor de dieren gering omdat geen voorbehandeling hoeft plaats te vinden.

Titel studie: In Situ Tissue Engineered Heart Valves in Sheep and Lambs

DEC nummer: 2013.II.08.093

In Situ Tissue Engineered Hartkleppen - Wat is de groei potentie?
Achtergrond: Ziekten aan de hartklep komen wereldwijd steeds meer voor. Mogelijk meer dan 850.000 patiënten hebben in 2050 klepvervanging nodig. De huidige hartklep prothesen fungeren niet optimaal. Zij kunnen trombo-embolieën veroorzaken en zij hebben mechanische defecten.
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. Hierbij trekt de prothese cellen aan vanuit de bloedbaan. De aangetrokken cellen gaan zich delen en weefsel produceren. Wanneer er voldoende weefsel is gemaakt zal de prothese afbreken. Dit nieuwe weefsel is de nieuwe hartklep gemaakt uit lichaamseigen cellen. Het grote voordeel is dat er geen trombo-embolieën zullen ontstaan op de klep en dat de klep mechanisch goed zal blijven functioneren. Hiernaast denken wij dat deze klep kan meegroeien met de patiënt. Dit zou betekenen dat kinderen die deze klep krijgen één keer geopereerd hoeven te worden. Dit in tegenstelling tot de huidige klepprothesen die kinderen nu ontvangen. De huidige kleppen gaan op termijn falen en moeten vervangen worden wat een tweede operatie betekend.
Globale aanpak vraagstelling: Uit onderzoek in verschillende laboratoria blijkt dat de biomaterialen die wij

gebruiken sterkt genoeg zijn om als klep te fungeren. Hierbij hechten cellen aan het materiaal en wordt er weefsel geproduceerd. Groei kan helaas zonder levende dieren niet worden aangetoond. Daarom implanteren wij deze biomaterialen in schapen die jonger zijn dan 1 jaar. In de tijd kunnen we de groei van de klep aantonen.

Titel studie: The new Sutureless Excimer Laser Assisted Non-occlusive Anastomosis connector for coronary arteries of 1,5 - 2,5 millimeter outer diameter versus the hand-sutured coronary bypass - Feasibility and safety study in a porcine off-pump coronary bypass model

DEC nummer: 2013.II.08.094

De nieuwe hechtingsloze Excimer Laser Assisted Non-occlusive Anastomosis (SELANA) connector voor vaten van 1,5 tot 2,5 millimeter buiten diameter
Achtergrond: De SELANA techniek is een techniek waarbij op een slagader een vaatverbinding gemaakt wordt zonder het vat af te sluiten en zonder hechtingen. Op dit moment is een kransslagader omleidingsoperatie middels een kijkoperatie erg moeilijk uitvoerbaar. Dit komt met name door de in een beperkte werkruimte moeilijk uitvoerbare hand-gehechte vaatverbinding. De SELANA techniek zou zo'n kijk-omleidingsoperatie op het hart mogelijk kunnen maken. Dit zou in de toekomst kunnen leiden tot een veiligere ingreep met minder complicaties, minder pijn na de operatie en een kortere herstelperiode.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om te testen of de SELANA techniek veilig toepasbaar is op de kleine kransslagaders op het hart en of de kwaliteit en betrouwbaarheid ervan vergelijkbaar is met de hand gehechte vaatverbinding.
Globale aanpak vraagstelling: Er zal per varken één vaatverbinding op de kleine kransslagaders op het hart worden gemaakt. De varkens worden op verschillende tijdstippen na de operatie gedood en er zal naar de kwaliteit van deze vaatverbindingen gekeken worden. Deze studie is vereist alvorens de stap te kunnen maken tot een veilige toepassing in mensen.

Titel studie: Practicumdag orgaanbadstudies FA302

DEC nummer: 2013.II.08.095

Onderwijsblok FA302, het geneesmiddel in chronisch inflammatoire aandoeningen
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Derde jaar studenten Farmacie krijgen in het blok FA302 inzicht en kennis op het gebied van chronisch ontstekingsziekten, zoals astma. Naast expertcolleges, immunologie colleges, werkcolleges en PGO-onderwijs over de ziekte en mogelijke behandeling, worden de studenten door middel van vier dagen practicum in de gelegenheid gesteld meer inzicht te krijgen in de rol van ontstekingscellen bij allergische aandoening zoals astma. Drie dagen bestuderen de studenten het gedrag van een allergische mestcel, een van de belangrijkste ontstekingscellen bij astma. Uit deze cel komen stoffen die verantwoordelijk zijn voor benauwdheid.
Opzet van het onderwijselement: Tijdens de vierde practicumdag waarbij gebruik gemaakt wordt van

dunne darmweefsel van de cavia, kunnen de studenten daadwerkelijk meten dat stoffen uit de mestcel contractie van gladde spieren kunnen veroorzaken en kunnen ze bovendien testen welke geneesmiddelen dit tegen gaan. De techniek waar de studenten mee werken wordt veel gebruikt bij de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen. Helaas is het niet mogelijk om dit op een andere manier te meten.

Titel studie: Het effect van ITAM signalering op de agonistische werking van CD40 antilichamen

DEC nummer: 2013.II.08.097

Het effect van activatie van ITAM op de activatie van dendritische cellen via CD40

Achtergrond: Antistoffen bestaan uit twee delen, een variabel gedeelte en een constant gedeelte. Het variabele gedeelte bepaalt waar de antistof specifiek voor is. Met het constante gedeelte kan de antistof binden aan eiwitten, receptoren genoemd, op witte bloedcellen. Deze receptoren kunnen witte bloedcellen activeren of remmen. Een recent onderzoek laat zien dat binding van een antistof aan het eiwit CD40 (met het variabele gedeelte) een bepaald type witte bloedcellen, nl. dendritische cellen activeert. Opvallend is dat dit effect afhankelijk is van de binding van de antistof aan de remmende receptor. Binding aan de activerende receptor heeft geen effect. De activerende receptoren bevatten een immunoreceptor tyrosine activatie motief (ITAM). Dit motief bevat twee typische sequenties van vier verschillende aminozuren met in ieder geval een tyrosine en leucine/isoleucine en daartussen twee willekeurige andere aminozuren. De twee sequenties zijn van elkaar gescheiden door 6-8 willekeurige aminozuren. Aan de tyrosine aminozuren in ITAM wordt na binding van een antistof aan de receptor een fosfaat-groep gehangen. Hierdoor kunnen andere eiwitten in de cel binden aan ITAM en geactiveerd worden. Het kan zijn dat door activatie van deze eiwitten de activatie van dendritische cellen via CD40 geremd wordt. Dit gaan we onderzoeken in deze studie.
Doel/hypothese: Onderzoeken of activatie van ITAM de activatie van dendritische cellen via CD40 remt.
Globale aanpak vraagstelling: Wij beschikken over muizen die wel de activerende receptoren tot expressie brengen maar geen ITAM hebben (NOTAM muizen). Door de activatie van dendritische cellen te meten in NOTAM muizen en in normale muizen kunnen we kijken of ITAM de activatie van dendritische cellen via CD40 beïnvloedt. Geactiveerde dendritische cellen kunnen andere witte bloedcellen, de CD8+ T cellen, activeren. CD8+ T cellen gaan na activatie delen en een eiwit, IFNg, produceren. In deze studie injecteren we de muizen met het antistof specifiek voor CD40. Na zeven dagen worden de muizen geëuthanaseerd en wordt de milt uit de muizen gehaald. In de milt wordt het aantal CD8+ T cellen en de IFNg productie door deze cellen bepaald. Eerdere studies met activerende en remmende receptoren hebben laten zien dat experimenten met gekweekte cellen andere resultaten laten zien dan experimenten in de muis. Daarom moeten we deze studie in de muis uitvoeren. Informatie over de werking van antistoffen is belangrijk omdat antistoffen gebruikt kunnen

worden als behandeling van bijvoorbeeld kanker. Met behulp van deze informatie kunnen we deze behandelingen verbeteren.

Titel studie: Het effect van microbioom modulatie m.b.v. antibiotica en microbiotica op RSV specifieke immuunrespons in BALB/c muizen

DEC nummer: 2013.II.08.098

Effecten van voeding en antibiotica op immuunparameters tijdens respiratoir syncytieel virus-infectie in muizen

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 verschillende suikergroepen bestuderen. Dit doen we met behulp van een viraal infectie model in combinatie met voeding-geïnduceerde verandering van de micro-organismen in de darm van muizen.

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 de populatie micro-organismen in de darm op de immuniteit onderzoeken. Dit doen we in een viraal infectie model in muizen. Deze muizen krijgen antibiotica in combinatie met voeding dat een sterke verandering in de populatie micro-organismen in de darm kan induceren. Vervolgens krijgen deze muizen een virale infectie met het respiratoir syncytieel virus (RSV). Na de infectie kijken we naar de ontwikkeling van de immuun reactie tegen het virus en hoe zich dit uit in functionele symptomen. Dierexperimenten zijn nodig omdat het complexe systeem van interactie tussen voeding, darmflora en direct- of indirect-immuunsysteem onmogelijk is na te bootsen in het lab.

Vergadering 18 september 2013

Titel studie: Investigate the relation between CTGF and fibrosis formation in the heart using the conditional CTGF 'Knock Out' mouse model, and looking at arrhythmia vulnerability and blood biomarkers

DEC nummer: 2013.II.09.099

Reductie van de Connective Tissue Growth Factor (CTGF) in een muis model: Verband tussen CTGF en bindweefsel vorming (fibrose) in het hart en de mogelijke gevolgen voor hartritmestoornissen en eventuele invloed op bloed biomarkers

Achtergrond: De helft van de mensen met hartfalen sterft als gevolg van een hartritmestoornis. Eén van de factoren die hartritmestoornissen kan veroorzaken is een toename van fibrose. Fibrose blijkt onder andere veroorzaakt te kunnen worden door een verhoging van de Connective Tissue Growth Factor (CTGF). Deze groeifactor wordt door hartcellen uitgescheiden en regelt de activiteit van veel verschillende eiwitten die fibrose kunnen veroorzaken. Een verandering in deze eiwitten kan mogelijk tot hartfalen leiden. Om dit te onderzoeken, gebruiken wij een muismodel, waarin wij de hoeveelheid CTGF-eiwit kunnen verminderen.

Doel/hypothese: In deze studie wordt het effect van CTGF op het ontstaan van fibrose in het hart en hartfalen onderzocht. De hypothese is dat reductie van CTGF tot een vermindering van fibrose en daarmee ook hartritmestoornissen leidt.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studie willen wij de relatie tussen CTGF, fibrose en hartritmestoornissen onderzoeken. Omdat dit mechanisme nog niet volledig bekend is, kan deze studie niet in patiënten gedaan worden. Er is immers een levend diermodel nodig om de interactie van CTGF en andere eiwitten en de effecten op de verschillende celtypes en het bindweefsel in het hart te kunnen bestuderen. Wij willen de hoeveelheid fibrose en de mate van hartritestoornissen vergelijken van muizen met een normale hoeveelheid CTGF en muizen zonder CTGF. Dit willen wij ook vergelijken in gezonde muizen en in een muismodel voor hartfalen (TAC=Transverse Aortic Constriction), waarbij de druk in het hart verhoogd wordt.

Titel studie: Reductie van Campylobacter in vleeskuikens

DEC nummer: 2013.II.09.101

Reductie van Campylobacter in vleeskuikens

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 meta-

bole 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 bacterie voor maar voor de mens is het een pathogeen. Wereldwijd is Campylobacter de belangrijkste veroorzaker van diarree bij de mens. Door de samenstelling van voedsel van kippen te veranderen hopen we de hoeveelheid C.jejuni in kippen sterk te verminderen.
Doel/hypothese: Het doel van dit project is om te zien of het mogelijk is om de hoeveelheid C.jejuni bacteriën in kippen te verlagen door de samenstelling van 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. Door aan kippen special voer te geven hopen we een sterke reductie te zien van de aantallen campylobacter in de kip. Om de hoeveelheid kippen te beperken en om C.jejuni hoeveelheden in de tijd te kunnen volgen zal gedurende vijf dagen een potje onder de cloaca worden bevestigd. Zeven dagen na het speciale voedsel te hebben gegeven worden de kippen geëuthanaseerd waarna de darminhoud kan worden bemonsterd op het voorkomen van Campylobacter en postmortaal onderzoek verricht kan worden.

Titel studie: Maturatie van dendritische cellen uit beenmerg door stimulatie met firstline DDS

DEC nummer: 2013.II.09.102

Activatie van het immuunsysteem door inpakmanieren van instabiele medicijnen
Achtergrond: In de afgelopen 10 jaar zijn er steeds meer biopharmaceuticals (BP) zoals therapeutische peptides, eiwitten en DNA stukken op de markt gekomen die in veel gevallen goed werken tegen bepaalde ziektes. Helaas zijn deze biopharmaceuticals onderhevig aan specifieke problemen: ze zijn niet stabiel in het lichaam, worden niet altijd vanzelf opgenomen in een cel en hebben niet altijd de mogelijkheid het juiste target orgaan te bereiken. Hierdoor gaat de werkzaamheid omlaag. Het doel van het huidige onderzoek is daarom het verminderen van problemen bij het specifiek afleveren van biopharmaceuticals. Daarom zijn er Drug Delivery systemen (inpakmanieren) in ontwikkeling. Deze formuleringen moeten instaat zijn degradatie tegen te gaan en het makkelijker te maken een lichamelijke barrière over te gaan. In deze Drug Delivery systemen zullen dan de biopharmaceuticals verpakt worden om zo toch hun locatie te bereiken. Echter is het nog onduidelijk of deze Drug Delivery systemen op zich zelf al het immuunsysteem zullen activeren.

Doel/hypothese: Beoordelen of de nieuwe inpakmanieren van instabiele medicijnen wel of niet als lichaamsvreemd worden beschouwd.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie zal worden gekeken naar de mogelijk vroege activatie van het immuunsysteem door de Drug delivery systemen. Dit wordt gedaan door te kijken naar activatie van sensorische cellen het immuunsysteem: de dendritische cellen. Muizen zullen hiertoe worden gedood, waarna beenmerg wordt geïsoleerd.

Titel studie: In ovo immunomodulatie in een infectie-model bij vleeskuikens met dier-specifieke antimicrobiele en immunomodulerende peptiden

DEC nummer: 2013.II.09.103

Een behandeling van vleeskuikens met kleine eiwitten die zijn afgeleid van natuurlijke componenten van het aangeboren immuunsysteem van de kip ter voorkoming en/of vermindering van etterige ontstekingen bij vleeskuikens ten gevolge van de E. coli bacterie
Achtergrond: De bacterie (E. coli) is een van de belangrijkste ziekteverwekkers bij vleeskuikens. Vleeskuikens worden bij besmetting met deze bacterie ernstig ziek en een deel van de vleeskuikens sterft. Vleeskuikens worden in geval van ziekte behandeld met antibiotica. Omdat de werkzaamheid van antibiotica, door het vele en foutieve gebruik in de pluimveesector, vermindert en dit ook kan leiden tot verminderde werkzaamheid van antibiotica in de humane sector, wordt gezocht naar alternatieven voor een behandeling met antibiotica. In dit experiment worden verschillende afweereiwitten (peptiden) gebaseerd op natuurlijke onderdelen van het immuunsysteem van de kip getest op de mogelijkheid om de gevolgen van besmetting met de E.coli bacterie te voorkomen. Deze eiwitten (peptiden) zijn gekozen omdat ze ervoor zorgen dat de kuikens vanaf het moment van uitkomst uit het ei tegen een aantal ziekteverwerkers beschermd worden.
Doel/hypothese: Behandeling van kuikens met lichaamseigen afweereiwitten (peptiden) voorkomt/vermindert etterige ontstekingen bij vleeskuikens door de E.coli bacterie.
Globale aanpak vraagstelling: Voor dit experiment worden kuikens nog in het ei behandeld met verschillende afweereiwitten of met een controle oplossing. Op de 7de levensdag worden de kuikens geïnfecteerd met een ziekteverwekkende E. coli bacterie of met een controle-oplossing. Twee of zeven dagen na de infectie worden de kuikens gedood. Organen en bloed van de kuikens worden verzameld en geanalyseerd.

Titel studie: Immunisatie van kippen met recombinante HA eiwitten verkregen in verschillende cel systemen

DEC nummer: 2013.II.09.104

Bescherming tegen influenza door middel van vaccinatie met 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 oppervlakte-eiwitten van het virus. Dit project richt zich op de ontwikkeling van eiwitvaccins gebaseerd op die oppervlakte-eiwitten en het productiesysteem daarvan. Er zijn verschillende voordelen van eiwitvaccins ten opzichte van huidige vaccins die gemaakt zijn van verzwakte/afgedode virussen. De eiwitvaccins kunnen gemakkelijk 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. Eiwitvaccins kunnen met verschillende productiesystemen gemaakt worden. In dit project worden eiwitten gemaakt met humane cellen, Chinese hamster cellen en insectencellen.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om de verschillen in antilichaam response te bepalen als er kippen worden gevaccineerd met eiwitvaccins die geproduceerd zijn in verschillende celsystemen.
Globale aanpak vraagstelling: Kippen worden gevaccineerd in de borstspier. Na drie 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. Vervolgens worden de kippen na drie weken geëuthanaseerd en het bloed wordt verzameld. Aangezien de eiwitvaccins uiteindelijk bestemd zullen zijn voor het doeldier de kip, zullen de experimenten in kippen plaats vinden.

Titel studie: Intranasaal IgA vs IgG voor de preventie van RSV infectie in BALB/c muizen

DEC nummer: 2013.II.09.105

Intranasaal antistof toediening voor de preventie van RSV infectie in muizen
Achtergrond: Het respiratoir syncytieel virus (RSV) is de belangrijkste veroorzaker van lage luchtweg infecties in (zeer) jonge kinderen. Op dit moment is er geen vaccin dat bescherming biedt tegen RSV infecties. Vroeg geboren kinderen en kinderen met congenitale hartafwijkingen hebben een groter risico op complicaties door RSV infectie en worden daardoor in de kliniek preventief behandeld met palivizumab (Synagis), een antistof gericht tegen het fusie (F) eiwit van RSV welke cruciaal is voor het binnendringen van gastheercellen. Palivizumab vermindert het risico op hospitalisatie na RSV infectie met ongeveer 55%. Er is nog wel dringende vraag naar alternatieven die een betere bescherming bieden. Antistoffen komen voor in verschillende (iso)typen, zoals IgG en IgA. IgA speelt van nature de voornaamste rol bij bescherming van de luchtwegen, waar RSV het lichaam ook binnendringt. Op het lab hebben wij IgA varianten van palivizumab gemaakt, die onderzocht zullen worden of ze een betere bescherming bieden tegen infectie met RSV in muizen.
Doel/hypothese: De effectiviteit van intranasale toediening van antistoffen van het IgA en IgG isotype in preventie van RSV infectie in muizen bepalen.
Globale aanpak vraagstelling: In de neus van de muizen zal antistof worden ingespoten van IgG of IgA varianten van palivizumab. Vervolgens worden de muizen één dag

later via de neus geïnfecteerd met RSV. Een mogelijk klinisch verschijnsel door RSV infectie in niet beschermde muizen is gewichtsafname. Het gewicht van de muizen wordt dan ook dagelijks bijgehouden na de infectie met RSV. Vijf dagen na infectie met RSV zullen de muizen worden geëuthanaseerd om te kijken naar andere parameters van infectie: de hoeveelheid virus in de longen en aanwezigheid van ontstekingscellen.

Vergadering 16 oktober 2013

Titel studie: Does aggregation have a role in immunogenicity of different types of human interferonbeta products?

DEC nummer: 2013.II.09.106

In hoeverre zijn kleine eiwitklontjes in interferon beta medicijnen verantwoordelijk voor het veroorzaken van een afweerreactie

Achtergrond: Immunogeniciteit van eiwitmedicijnen zoals interferon beta is een groot probleem. Deze type medicijnen veroorzaken een afweerreactie in patiënten die kan leiden tot falende behandeling en verschillende bijwerkingen. Tot ongeveer 60% van de patiënten behandeld met het eiwitmedicijn interferon beta krijgt zo'n afweerreactie. Wij willen onderzoeken waarom deze afweerreactie ontstaat. Kleine aggregaten (specifieke eigenschap van de molecuulstructuur) in de medicijnen, of de (structuur van) eiwitten zelf zouden een oorzaak kunnen zijn.

Doel/hypothese: Het bepalen in hoeverre kleine eiwitklontjes in interferon beta medicijnen kunnen bijdragen aan het induceren van een afweerreactie in muizen.

Globale aanpak vraagstelling: Genetische gemodificeerde muizen en controlemuizen zullen worden behandeld met interferon beta medicijnen met verschillende hoeveelheden kleine klontjes. Deze medicijnen worden, gedurende drie weken, vijf keer per week in de buikholte

geïnjecteerd. Voordat de injecties beginnen en tijdens de injectieweken wordt bloed afgenomen via wangpunctie en getest op een afweerreactie tegen de medicijnen.

Titel studie: Virale verspreiding, pathomorfologische veranderingen en gastheer-agensinteracties na intranasale inoculatie met IBV M41 in kippen

DEC nummer: 2013.II.10.107

Virale verspreiding, pathologie en gastheer-virusinteracties na toediening van IBV (type M41) in de neus bij kippen

Achtergrond: Het infectieuze bronchitis virus (IBV) is wereldwijd een belangrijk virus bij de kip dat schade geeft aan luchtwegen, nieren en eileider. Door het bestaan van veel verschillende virusstammen, is het moeilijk een vaccin tegen IBV te produceren dat voldoende kruisreactiviteit voor de meest voorkomende stammen biedt. Deze verschillende virusstammen veroorzaken verschillende ziektebeelden, waarvan niet precies duidelijk is hoe deze verschillen tot stand komen. IBV veroorzaakt zowel schade in de leghensector (lage ei kwaliteit/steriliteit) als in de vleeskuikensector (sterfte, grotere vatbaarheid voor secundaire bacteriële infecties). De grotere gevoeligheid voor bacteriële infecties vereist grootschalig gebruik van antibiotica, waardoor de kans op het ontstaan van antibioticum-resistente bacteriën vergroot wordt. Dit kan tot gevolg hebben dat ook humaan bepaalde antibiotica op den duur niet meer met succes kunnen worden gebruikt. Om IBV infecties succesvol te stoppen of tegen te gaan, zijn betere vaccinatiemogelijkheden of andere manieren van interventie nodig. Hiervoor is meer kennis nodig van het precieze ziekteproces van IBV infecties.

Doel/hypothese: Doel: Het determineren van betrokken celtypen in weefsels en de bloedbaan in het ziekteverloop van IBV (type M41) na virale toediening in de neus, voornamelijk in de initiële fase van het ziekteproces.

Hypothese: De verspreiding van IBV (type M41) door het lichaam is zowel ontstekings-/immuuncel afhankelijk als afhankelijk van infectie van andere weefseleigen celtypen.

Globale aanpak vraagstelling: Via de neus geïnfecteerde kippen worden gedurende acht dagen klinisch gevolgd. Op gezette tijden zullen dieren worden geëuthanaseerd en ter sectie gebracht met als doel weefsel- en bloedmonsters voor nader onderzoek te verzamelen. Deze monsters worden morfologisch onderzocht (macroscopisch en microscopisch), getest met behulp van antilichaam- en DNA technieken om aanwezigheid van het virus aan te tonen en bekeken met een elektronenmicroscoop om de aanwezigheid van virionen zelf in en rond relevante celtypen in beeld te brengen. Omdat het proces achter een infectieziekte een resultante is van interacties tussen het lichaam van de gastheer en de ziekteverwekker, is het correct bestuderen van een dergelijk proces enkel mogelijk middels het infecteren van proefdieren. Daar de resultaten van deze proef de potentie hebben bij te dragen aan vermindering van antibioticumgebruik, economisch verlies in de pluimveehouderij en welzijnsaantasting bij bedrijfsmatig gehouden kippen, is het gebruik van proefdieren met slechts mild

ongerief (enkele keren hanteren en euthanasie, slechts milde ziekteverschijnselen bij geïnfecteerde dieren) ons inziens gerechtvaardigd.

Titel studie: The modulatory role of the spleen in the innate immuunresponse following severe trauma

DEC nummer: 2013.II.10.108

De rol van de milt in de immuunreactie die optreedt na ernstig letsel

Achtergrond: Na een ongeval of tijdens langdurige chirurgie wordt (door weefselschade) het immuunsysteem geactiveerd. Deze activatie kan ontsporen en dit kan het klinische beloop ernstig compliceren. De belangrijkste cel in het ontstaan van deze immuunreactie en complicaties is de neutrofiele granulocyt. Het is onduidelijk op welke manier deze cel gereguleerd wordt.

Recente literatuur heeft aan het licht gebracht dat de milt hier mogelijk een rol in speelt. Het uitnemen van de milt zou bovendien resulteren in een vermindering van de eerder genoemde complicaties. Dit laat zich verklaren doordat er specifieke subsets van neutrofielen in de milt zitten (die na uittreding uit de milt naar de bloedbaan schadelijk kunnen zijn).

Doel/hypothese: 1) De milt functioneert als een reservoir voor specifieke subsets (met verschillende functionele eigenschappen) van neutrofiele granulocyten. 2) Uitname van de milt resulteert in een demping van de ontstekingsrespons van het lichaam op ernstige weefselschade.

Globale aanpak vraagstelling: De studie kent twee onderdelen en betreft een toevoeging op een andere studie. Door onze studie te combineren met een andere studie zijn er minder proefdieren nodig. Beide studies interfereren niet met elkaar. Middels een driepuntsbuigapparaat zal een beiderzijdse gesloten breuk van het onderbeen worden gemaakt. Hierna zal er voor enkele uren geopereerd worden. Beide processen resulteren in significante weefselschade en een systemische activatie van het immuunsysteem mag verwacht worden. Door op gezette tijden bloed af te nemen pogen wij middels onderdeel 1 van de studie een beeld te krijgen van de kinetiek van de verschillende componenten van de immuunreactie na ernstige weefselschade. Indien deze kinetiek beschreven is zal het effect van het uitnemen van de milt op activatiestatus van het immuunsysteem getoetst worden door op specifieke tijden een splenectomie (het uitnemen van de milt) te verrichten. Door analyse van de uitgenomen milten kan de veronderstelde reservoirfunctie van de milt getoetst worden tijdens het tweede onderdeel van de studie. Beide onderdelen zullen ingepast worden in het reeds bestaande vaardigheidsonderwijs voor chirurgen in opleiding. Een miltverwijdering maakte al onderdeel uit van dit onderwijs. Het enige verschil is dat het moment van uitvoering van een miltverwijdering voor onderdeel 2 vooraf wordt bepaald. De overige zaken interfereren niet met het onderwijs.

Titel studie: De geschiktheid van harttelapparatuur en plasmalactaatconcentratie hand-held meetapparatuur voor de toepassing bij paarden

DEC nummer: 2013.II.10.109

De geschiktheid van harttelapparatuur en hand-held meetapparatuur voor het bloedmelkzuurgehalte voor toepassing bij paarden

Achtergrond: Er zijn voor paarden steeds nieuwe versies van hartslagmeters op de markt. De betrouwbaarheid van deze apparatuur is essentieel als je er vervolgens onderzoek mee wilt doen. Precies hetzelfde geldt voor 'hand held' bloedmelkzuurmeters. Verder geldt dat betrouwbaarheid voor de mens absoluut niet garandeert dat betreffende apparatuur ook betrouwbaar is voor het paard.

Doel/hypothese: De nieuwe hartslagmeters zijn slechts beperkt op betrouwbaarheid voor hartslagmeting bij het paard onderzocht en helemaal niet voor heart rate variability. Daarom zal deze apparatuur in deze studie worden getest in rust, na arbeid en in 'schrik' omstandigheden. De nieuwe bloedmelkzuurmeter is nog niet voor paarden geëvalueerd. Een ouder type is wel al eerder gevalideerd voor paarden. Het doel van deze studie is om bloedmonsters in rust en na arbeid te meten op de officiële bloedgasapparatuur, op de oude melkzuurmeter meter en op de nieuwe melkzuurmeter. De hypothese is dat de apparatuur betrouwbaar is.

Globale aanpak vraagstelling: De paarden zullen eerst een uur op stal staan om de drie soorten harttelmeters met elkaar te vergelijken (ECG telemetrie, digitale hartslagmeter en analoge hartslagmeter). Vervolgens zullen de paarden een 5-step standaard functieproef lopen. Na iedere 'step' (rondje lopen) zal een bloedmonster worden afgenomen voor melkzuurbepaling. 1-2 Weken later zullen de paarden het uur op stal staan weer ondergaan en vervolgens zullen ze plotseling enkele malen geconfronteerd worden met een paraplu om te zien welk effect het 'laten schrikken' heeft op hartslagfrequentie en Heart rate variability. Als de paraplu niet voldoende schrik opwekt zal een ratel geprobeerd worden of eventueel een ballon laten knappen. Het paard is het doeldier en daarom is testen op paarden noodzakelijk.

Titel studie: Role of LAIR-1 in the regulation of immune pathology on day 2 of RSV infection

DEC nummer: 2013.II.10.110

De rol van LAIR-1 in de controle van immuun pathologie tijdens een RSV infectie

Achtergrond: Respiratoir syncytieel virus (RSV) infecties van de luchtwegen is de meest voorkomende oorzaak van de opname van kinderen in het ziekenhuis. Algemeen wordt aangenomen dat de symptomen niet enkel veroorzaakt worden door een rechtstreeks effect van het virus op celdood, maar eveneens door een ongeremde immuunrespons. Remmende receptoren kunnen de immuunrespons 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. 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. Aangezien LAIR-1 in staat is de immuunrespons te bedwingen, wensen wij na te gaan of het blokkeren van LAIR-1 de ernst van een RSV infectie zal versterken. Voorgaand experiment is uitgevoerd op dag vijf na infectie waarbij duidelijk werd dat er een duidelijke andere response is in LAIR knock-out muizen met name op lymfocyten (adaptieve immuunrespons). Dit experiment wordt nu herhaald op dag twee om de aangeboren immuunrespons in kaart te brengen. Als uitkomstmaten worden genomen: gewichtsverlies, de mate ontsteking van de luchtwegen (bepaald door het totaal en differentieel aantal witte bloedcellen in het longvocht en in de longen zelf), en de hoeveelheid virus gemeten in de longen op het einde van het experiment.
Doel/hypothese: Het onderzoeken van het belang van LAIR-1 signalering ten tijde van een luchtweginfectie door gebruik te maken van muizen met en zonder LAIR-1.
Globale aanpak vraagstelling: Wij wensen het mechanisme achter het pathologisch beeld van muizen zonder LAIR-1 tijdens RSV infecties te bestuderen. Eerst zullen we de muizen infecteren met RSV en het ziektebeeld in muizen zonder LAIR-1 en controle muizen opvolgen. We zullen eveneens eiwitconcentraties, differentieel cel aantallen en signaleringsstoffen in het longvocht bepalen op dag twee (in de eerdere studie keken we alleen naar dag vijf). 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.

Titel studie: Selective homing of neutrophils in the spleen after LPS induced inflammation

DEC nummer: 2013.II.10.111

De weefselverdeling van neutrofielen in reactie op ontsteking door een stof (LPS) dat zich bevindt op bepaalde bacteriën
Achtergrond: Weefselschade (door trauma of bacteriën) resulteert in de activatie van een ontstekingsreactie. Bij een kleine hoeveelheid schade zal een lokale reactie optreden. Indien er erg veel letsel is kan het immuunsysteem in het gehele lichaam geactiveerd raken. Deze reactie kan echter uit de bocht schieten. Overmatige activatie zorgt dan voor extra schade. Bij trauma patiënten wordt dit frequent gezien en er zijn momenteel geen adequate behandelingsmethoden voor dit probleem. De belangrijkste cel in dit proces is de neutrofiele granulocyt. De milt is een opslagplaats voor deze cellen en deze opslagcapaciteit neemt explosief toe bij ontsteking (door trauma/ziekteverwekkers). Het is onduidelijk welke type neutrofielen er in de milt zitten en wat hun functie is. Bovendien is het niet duidelijk in welke compartimenten van de milt deze neutrofielen zich bevinden. De milt kent twee compartimenten; de rode en de witte pulpa.
Doel/hypothese: Het doel is tweeledig. 1) Inventariseren welke specifieke neutrofielen zich in de milt ophouden bij inflammatie. 2) Inventariseren of neutrofielen migreren van de rode pulpa van de milt (veneus compartiment) naar de witte pulpa (in nabijheid van T- en B-cellen.
Globale aanpak vraagstelling: Wij zijn voornemens om proefdieren bloot te stellen aan een stofje (LPS) dat zich

op bacteriën bevindt. Hierdoor wordt het immuunsysteem geactiveerd en kan de reactie van neutrofiele granulocyten hierop geanalyseerd worden. Door op verschillende momenten, na de inductie van ontsteking, muizen te termineren en zowel de milten als het bloed te evalueren zal inzicht verkregen worden in de verdeling van neutrofielen over de verschillende compartimenten in de milt.

Vergadering 13 november 2013

Titel studie: De rol van LAIR-1 in neutrofielen gemedieerde ziektebeelden

DEC nummer: 2013.II.11.114

De rol van remmende receptoren in witte bloedcel gemedieerde ziektebeelden
Achtergrond: In zowel infectieuze als niet-infectieuze ziektes beschadigen witte bloedcellen, in hun poging de ziekte de baas te worden, onnodig omliggende weefsels. Het is van groot belang de mechanismen die deze witte bloedcellen activeren en aansturen te begrijpen om uiteindelijk nieuwe behandelmogelijkheden te kunnen ontwikkelen. In eerdere experimenten hebben we reeds laten zien dat LAIR-1 (een remmende receptor) niet op witte bloedcellen in de bloedbaan voorkomt, maar dat ten tijde van een virale infectie (RSV-infectie) de witte bloedcellen die naar de long migreren wel een hoge mate van LAIR-1 tot expressie brengen.
Doel/hypothese: In de komende twee studies willen we gebruik maken van een buikvliesontstekingsmodel en een niet-infectieus longmodel, namelijk beademing, aantonen dat net als bij een RSV infectie, de remmende receptor LAIR-1 de stroom witte bloedcellen vanuit het bloed naar de ontstoken (en/of geïnfecteerde) gebieden (buikholte en longen respectievelijk) reguleert.
Globale aanpak vraagstelling: In muizen met en zonder LAIR receptor zal een buikvliesontsteking opgewekt worden. Zes uur later zullen de dieren worden gedood om de mate van ontsteking en LAIR-1 activatie en migratie te bestuderen. Een tweede groep muizen met en zonder LAIR-1 receptor zullen gedurende vijf uur beademd worden met spontaan ademende muizen als controle groep. Na vijf uur zullen de dieren worden geofferd om de mate van ontsteking en LAIR-1 activatie en migratie te bestuderen. Hiervoor zal in beide experimenten gekeken worden naar het aantal witte bloedcellen in het ontstoken orgaan, de mate van LAIR-1 expressie op de witte bloedcellen in het bloed en de buikholte/respectievelijk de longen. Deze studies kunnen door de complexiteit van de immuunrespons in bovengenoemde ziektebeelden niet zonder diermodellen verricht worden.

Titel studie: Chronische CaMKII inhibitie en fibrose remming bij geleidingsafhankelijke ritmestoornissen

DEC nummer: 2013.II.11.115

Chronische remming van CaMKII en fibrosevorming bij geleidingsafhankelijke ritmestoornissen
Achtergrond: CaMKII is een eiwit in het hart dat, als het langdurig geactiveerd is, leidt tot hartritmestoornissen en hartfalen. We weten dat wanneer we hartfalen induceren (door de aorta gedeeltelijk af te binden) in een muis die een CaMKII remmend eiwit in zich heeft (door genetische manipulatie), dat we de ritmestoornissen echter niet kunnen voorkomen. Door technieken te gebruiken die de elektrische geleiding van het hart zichtbaar maken (zogeheten elektrische mapping), hebben we dit gemeten. Nadere studie liet echter wel zien dat twee van de drie belangrijke componenten die een belangrijke rol

hebben in het veroorzaken van de ritmestoornissen sterk verbeterd waren.
Doel/hypothese: Het doel van dit vervolgonderzoek is dat we de derde component (bindweefsel vorming) ook willen verbeteren door de aanwezigheid van dit bindweefsel in het hart te remmen middels het behandelen van de dieren met een medicijn, eplerenone genaamd. Wij hebben al eerder laten zien dat dit medicament sterk remmend werkt op de vorming van bindweefsel.
Globale aanpak vraagstelling: We induceren hartfalen in muizen door de aorta gedeeltelijk af te binden in muizen met CaMKII remming. Vervolgens behandelen we één groep muizen met eplerenone en de andere groep niet. Na 16 weken worden de dieren geëuthanaseerd en bepalen we de elektrische geleiding van de harten door electroden te plaatsen op een geïsoleerd, maar nog wel levend, hart. Een dergelijke studie kan alleen in proefdieren gedaan worden, omdat er simpelweg geen enkel model beschikbaar is dat complex genoeg is om geleiding in het hart te simuleren of wat de vorming van bindweefsel kan laten gebeuren. (bv: multicellulaire preparaten zijn 2-dimensionaal, terwijl geleiding en architectuur in het hart 3-dimensionaal zijn). Tevens zullen we de individuele hartspiercellen isoleren om de elektrische eigenschappen te meten.

Titel studie: Effects of dietary interventions on tolerance induction with peptides for cow's milk allergy

DEC nummer: 2013.II.11.116

Effecten van diëten met prebiotica, probiotica of synbiotica aan de preventieve behandeling van koemelkallergie met kleine eiwitfragmenten
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 versterkt. Een voorbeeld van prebiotica zijn de galacto- en fructoligosachariden. Dit zijn niet-verteerbare vezels die worden toegevoegd aan formula melk. Net als humane melk oligosachariden zijn ze belangrijk voor de opbouw van de darmflora. Recent is aangetoond dat een dieet met deze oligosachariden koemelkallergie symptomen deels kan voorkomen. Bovendien is gebleken dat het de effectiviteit van tolerantie inductie met behulp van enzymatisch geknipt koemelk eiwit verbetert. Verder is van probiotische bacteriën aangetoond dat ze in combinatie met prebiotica in een dieet de koemelkallergie symptomen in een muismodel nog beter kunnen verminderen. Toevoeging van prebiotica alleen of in combinatie met probiotica kan dus tolerantie inductie met kleine eiwitfragmenten voor koemelk mogelijk verder bevorderen.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om te on-

derzoeken of prebiotische, probiotische of synbiotische (combinatie van pre- en probiotica) diëten in staat zijn om het effect van de eiwitfragmenten te versterken en de allergische symptomen tegen koemelk te verminderen.
Globale aanpak vraagstelling: De mix van kleine eiwitfragmenten worden in een preventief muismodel getest. Hiervoor worden de dieren eerst met de fragmenten behandeld en daarna allergisch gemaakt voor koemelk. Tijdens de behandelingsperiode krijgen de dieren een specifiek dieet met prebiotica, probiotica of synbiotica of een controle dieet. Tijdens inductie van de koemelk allergie krijgen alle dieren een controle 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 postmortem onderzoeken wat onmogelijk is in de mens.

Titel studie: Autonome regulering van de activiteit van ontstekingscellen in de arteriële vaatwand

DEC nummer: 2013.II.11.117

De rol van het autonome zenuwstelsel in de activiteit van ontstekingscellen bij aderverkalking
Achtergrond: Atherosclerose oftewel aderverkalking is al lange tijd de grootste doodsoorzaak ter wereld. De aandoening is de basis van de meeste hart en vaatziekten, hersenbloedingen en –infarcten en is betrokken bij vele andere ziekten. Het is een ontstekingsziekte en hoewel we inmiddels weten dat het zenuwstelsel signalen naar het afweersysteem kan sturen om ontsteking in gang te zetten of af te remmen zijn de meer specifieke processen daarin niet bekend. Bepaalde stoffen uit de hersenen kunnen via zenuwen opdracht geven aan ontstekingscellen om actief of juist inactief te worden. Deze studie is bedoeld om een duidelijker beeld te scheppen van de organen en processen die leiden tot het ontstaan, het stimuleren en het remmen van aderverkalking. Belangrijk hierin zijn zowel de rollen van het afweersysteem en het zenuwstelsel die beide aangrijpingspunten bieden voor behandeling of het vinden van methoden ter voorkoming van de aandoening.
Doel/hypothese: Zenuwuiteinden scheiden in de wand van bloedvaten stofjes af die de daar aanwezige ontstekingscellen stimuleren of remmen om ontsteking in gang te zetten. Daardoor ontstaat in de vaatwand aderverkalking met als gevolg slechte doorbloeding en verstoorde werking van het achterliggende weefsel. In de bloedvaten van het hart en de hersenen leidt dat tot infarcten en bloedingen waarbij vaak ernstig lijden optreedt. Met dit onderzoek willen we de volgende vragen beantwoorden: 1) Hoe werken zenuwen in de wand van bloedvaten? 2) Zien we rond deze zenuwen in de muis, net als in de mens meerdere ontstekingscellen gegroepeerd? 3) Zijn die ontstekingscellen actief of actiever op plaatsen van hoge zenuwconcentratie? 4) Verandert er iets in de aanwezigheid van ontstekingscellen of hun activiteit wanneer zo'n specifieke zenuw (de nervus vagus) wordt gestimuleerd?
Globale aanpak vraagstelling: Er zijn vier groepen muizen gepland die allen twee weken tevoren op een vetrijk dieet worden gezet om daarmee de ontstekingsrespons te stimuleren. Op de dag van het acute experiment

zal, onder volledige anesthesie, bij groep C en D de nervus vagus worden gestimuleerd met een elektrische stimulator. Bij groep C zal vooraf echter voor de vagale stimulatie een deel van de rechter halsslagader worden vrijgemaakt van zenuwweefsel. Er is een zogenaamde Sham-groep B die de hele procedure zal ondergaan behalve de stimulatie van de nervus vagus. Daarnaast is er een groep A die fungeert als controlegroep. Met deze dieren gebeurt niets dan vetrijk dieet, anesthesie en bloedafname. Aan het eind van het experiment wordt bij alle groepen bloed afgenomen voor onderzoek. Ook zullen bij alle groepen, na euthanasie, de halsslagaders worden uitgenomen en bestudeerd. We zullen aan de hand van het bloed de verschillen in de mate van ontstekingsactiviteit bepalen. In de wand van de halsslagaders zullen we bepalen welke ontstekingscellen daar aanwezig zijn, wat ze precies doen en welk type zenuwvezels daarin actief zijn. Met deze opzet denken we een grote hoeveelheid kennis op te doen met relatief korte experimenten en minimaal ongerief voor de proefdieren.

Vergadering 4 december 2013

Titel studie: Vergroten bacteriële eiwitten van Streptococcus pyogenes de kans op trombus vorming

DEC nummer: 2013.II.12.119

Vergroten bacteriële eiwitten van Streptococcus pyogenes de kans op trombus vorming
Achtergrond: Het antifosfolipiden syndroom is een aandoening waarbij het lichaam reageert op lichaamseigen stoffen (auto-immuunziekte) door de aanmaak van antistoffen. In dit geval reageert het lichaam op het bloedeiwit beta2-glycoproteïne I. Door de binding van antistoffen gaat dit eiwit zich anders gedragen en zorgt het voor meer kans op trombose.
Doel/hypothese: Het doel is om te kijken naar de invloed van bacteriële eiwitten van Streptococcus pyogenes op de tijd tot trombus vorming. De hypothese is dat de bacteriële eiwitten sneller de reactie op gang zetten tot trombus vorming, vergelijkbaar met de anti-beta2-glycoproteïne I antistoffen.
Globale aanpak vraagstelling: In dit onderzoek zullen we zes achtereenvolgende keren (één keer in de vier weken) injecteren met twee verschillende eiwitten. Één die beta2-glycoproteïne I verandert en één die beta2-glycoproteïne I niet verandert. Hierna wordt onderzocht of de anti-beta2-glycoproteïne I antistoffen die hierdoor ontstaan leiden tot een protrombotisch fenotype. Dit zal worden vastgesteld door de muizen te gebruiken in

een experiment waarbij een suboptimale protrombotische prikkel wordt aangebracht op de halsslagader van de muis met behulp van een ijzerchloride oplossing. Vervolgens zal met een sonde die de doorstroming van het bloedvat meet, de tijd tot afsluiting van het vat door trombus vorming worden gemonitord. Als er sprake is van een protrombotisch fenotype zal er eerder afsluiting van het vat door trombus vorming optreden. Door de complexe aard van deze fysiologische reacties (een immunologische respons en het optreden van trombose) is het gebruik van proefdieren voor het beantwoorden van deze vraagstelling ons inziens onontbeerlijk.

Titel studie: Neutrophil subsets after invasive surgery and their effect on infarct size in myocardial ischemia reperfusion injury

DEC nummer: 2013.II.12.120

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 schaden leiden (reperfusieschade). Het is inmiddels bekend dat bij deze reperfusie schade het immuunsysteem een belangrijke rol speelt en dat er bij reperfusie een acute ontstekingsreactie in het hart ontstaat waardoor het herstel van het hart na een hart infarct 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 hebben we eerder onderzocht of de activatie van dit immuunsysteem door chirurgie ook een effect heeft op de uiteindelijke grootte van het hartinfarct. Het lijkt zo te zijn dat door vroege activatie van het immuunsysteem (door de chirurgie) het hartinfarct bij het varken kleiner wordt. In deze studie willen we nu in meer detail gaan kijken wat er precies anders is aan deze activatie van het immuunsysteem. Dit is interessant omdat, wanneer we dit verschil kunnen identificeren, we mogelijk nieuwe therapieën kunnen ontwikkelen die dit effect nabootsen. Op deze manier zou een nieuw medicijn tegen een hartinfarct ontwikkeld kunnen worden.

Doel/hypothese: Het doel van dit experiment is om te bepalen door welke immunologische veranderingen de invasieve chirurgie leidt tot het kleiner worden van een hartinfarct. Als we deze veranderingen kunnen identificeren brengt dit ons een stap dichter bij het begrijpen van de processen die plaatsvinden tijdens een hartin-

farct. We denken dat een bepaalt type witte bloedcel hier een grote rol bij speelt en dit zullen we verder onderzoeken.
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 gebeurt dit alleen d.m.v. het blootleggen van de bloedvaten in de hals. Vervolgens zal de infarctgrootte vergeleken worden, zoals ook in eerdere experimenten. Daarna zal herhaaldelijk bloed worden afgenomen en van dit bloed zullen specifiek de witte bloedcellen bekeken worden en vergeleken worden tussen de groepen. 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: Catheter-based devascularisation of atherosclerotic lesions

DEC nummer: 2013.II.12.121

Verminderen van de bloedvoorziening van aderverkalkte plekken in de slagaders
Achtergrond: Hartinfarcten en de gevolgen daarvan op de kwaliteit van leven en sterfte nemen een belangrijke plaats in de Westerse wereld. Het merendeel van alle hartinfarcten wordt veroorzaakt door toegenomen aderverkalking in de vaatwand van kransslagaders. De huidige therapieën – bloedverdunners, anticholesterolmedicijnen, dotteren, stents – hebben allemaal hun nadelen en grijpen niet of nauwelijks aan op de belangrijkste factoren die de atherosclerotische plaque (aderverkalkte plekken) in stand houden. De aderverkalking bevindt zich aan de binnenkant van het bloedvat. De voedingsstoffen en zuurstof voor de groei van deze aderverkalking komen echter vanuit de buitenste laag van het vat (adventitia), waarin hele kleine bloedvaatjes lopen die eigenlijk het bloedvat zelf van groei- en voedingsstoffen voorzien. Met een sinds kort bestaande techniek wordt een slangetje in de bloedbaan gebracht en worden radiogolven uitgezonden vanuit de binnenkant van het vat naar de buitenste laag. Deze radiogolven wekken plaatselijk warmte op, waardoor de bloedvaatjes die de aderverkalking van bloed en zuurstof voorzien stuk gaan. Dit zorgt ervoor dat de aderverkalking zal verlittekenen en kleiner zal worden. Hierbij wordt in de oorsprong aangegrepen op dé belangrijkste groeifactor van de aderverkalking. Zo wordt de aderverkalking gestabiliseerd en ontstaan er minder stolsels. Wanneer dit effect zou optreden in de kransslagaders, leidt dit tot minder hartinfarcten.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is om het effect te bepalen van het wegnemen van de bloedvoorziening van de verkalkte plekken in de vaatwand. De hypothese is dat een verminderde bloedtoevoer leidt tot een verminderde toevoer van voedingsstoffen en zuurstof en zo leidt tot een verlittekening en afname van de grootte van de aderverkalkte plek. Dit leidt tot minder stolsels en zou een behandeling kunnen zijn om aderverkalkingen in bijvoorbeeld de kransslagaders te kunnen voorkomen.

Globale aanpak vraagstelling: Deze studie kan alleen worden uitgevoerd in proefdieren, omdat de opbouw en de toevoer van bloed, zuurstof en voedingsstoffen in de vaatwand een erg complex en veranderend proces is. Deze "levende" vaatwand, de bloedvoorziening en de manier waarop de vaatwand zich herstelt door therapie kan niet in een laboratorium worden nagebootst. Er is specifiek gekozen voor konijnen omdat deze snel na het gebruik van een vetrijk dieet aderverkalkte plekken ontwikkelen en omdat hun bloedvaten groot genoeg zijn voor toegang met een katheter (soort slangetje). Konijnen zullen 17-20 weken een vetrijk dieet krijgen om het ontstaan van aderverkalkingen te stimuleren. Dit proces zal worden versneld door een ballonnetje in de aorta op te blazen en de vaatwand te beschadigen. 16 Weken na het begin van het vetrijke dieet wordt een katheter in de aorta gebracht en door middel van radiogolven behandeld met warmte-energie die de kleine bloedvaatjes in het buitenste deel van de vaatwand vernietigt. Hierna zal het weefsel van de aorta dat wel behandeld is, worden vergeleken met dat dat niet behandeld is.

Titel studie: The role of LAIR-1 in the pathogenesis of Systemic sclerosis (SSc)

DEC nummer: 2013.II.12.122

De rol van de receptor LAIR-1 in de pathogenese van Systemische Sclerose (SSc)

Achtergrond: Systemische sclerose (SSc) is een ernstige auto-immuunziekte waarbij de huid en interne organen aangedaan zijn. SSc patiënten hebben verbindweefseling (fibrose) van de organen hetgeen leidt tot een sterk verminderde functie waardoor strakke huid, wondjes, nier- en hart/long problemen ontstaan. Deze problemen zijn vaak ernstig en leiden tot pijn, moeheid maar ook vroeg overlijden. De oorzaak van SSc is tot op heden onbekend, alhoewel meer bewijs lijkt te komen voor een belangrijke rol van het immuunsysteem. Het eiwit collageen type I is verhoogd aanwezig in SSC patiënten. Collageen bindt aan de receptor genaamd LAIR-1. LAIR-1 receptor zou daarom een belangrijke rol kunnen spelen in de pathogenese van SSc.

Doel/hypothese: Het doel is de rol van LAIR-1 in het ontstaan van SSc te onderzoeken in een muizenmodel voor SSc; het Bleomycine model. Om aan te tonen dat collageen en de collageen bindende receptor LAIR-1 belangrijke rollen spelen in het ontstaan van SSc willen we in deze studie LAIR-1 signalering en de ontwikkeling van SSc in muizen waarbij de LAIR-1 receptor uitgeschakeld is (genaamd LAIR-1 knockout muizen) bestuderen.

Globale aanpak vraagstelling: In het Bleomycine model worden de dieren blootgesteld aan Bleomycine, wat na herhaaldelijke toediening tot een abnormale toename van bindweefsel (fibrose) leidt. Omdat we specifiek de rol van de LAIR-1 receptor willen bestuderen gebruiken we muizen waarbij de receptor normaal aanwezig is (wild type), en muizen waarbij de LAIR-1 receptor uitgeschakeld is (LAIR-1 knockout muizen). In deze studie zullen we twee groepen muizen met Bleomycine behandelen (wild type en knockout). Omdat de injecties zelf ook een klein beetje fibrose veroorzaken, is het gebruik van controle groepen waarbij alleen een zoutoplossing toegediend zal worden noodzakelijk. In totaal zijn er vier groepen muizen. De muizen zullen vijf dagen per



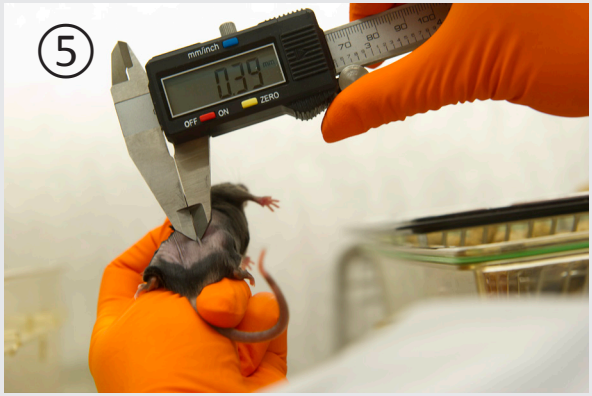






Muizen met en zonder Systemische Sclerose

Door de Systemische Sclerose ontstaat een toename van het bindweefsel (fibrose) en ontstaan kale plekken op de buik (foto 3). Als maat voor de verbindweefseling wordt wekelijks de huiddikte gemeten. Hiertoe, en voor het dagelijks injecteren, wordt op de rug een klein beetje haar weg geschoren (foto 2). Bij de muis op foto 5 is geen Sclerose geïnduceerd (gezonde controle muis), bij de muis op foto 4 wel (muis blootgesteld aan Bleomycine). Dit is goed zichtbaar wanneer de huiddikte wordt gemeten (0,39 vs. 1,39 mm).







Een foto uit de reizende expositie 'Sclerodermie in beeld' van de stichting 'Scleroderma Framed'. Een expositie met foto's van Hans Peter van Velthoven waarmee op een positieve en kunstzinnige aandacht wordt gevraagd voor deze zeldzame, ernstige reumatische aandoening die gekenmerkt wordt door toename van bindweefsel in de huid en de inwendige organen. De foto's laten de mens achter sclerodermie zien zonder de typische uiterlijke kenmerken, zoals het strakker worden van het gezicht, te verdoezelen.

Dierproeven zijn voor mij altijd 'ver van mijn bed' geweest. Je weet dat het plaatsvindt, maar hoe en wat precies wil je eigenlijk liever niet weten. Inmiddels ben ik me er meer van bewust dat dierproeven in de wetenschap nodig zijn om processen van ziektebeelden als sclerodermie te onderzoeken, en helaas zijn daar (op dit moment) nog steeds dieren voor nodig. Maar ook dieren zijn wezens met gevoel en ook zij zullen in hun korte leven de pijn en de beperkingen van de sclerodermie ervaren. Mijn verstand zegt dat dierproeven nodig zijn, er immers nog geen alternatieve methode om deze onderzoeken uit te voeren.
Mijn gevoel zegt: niets of niemand sclerodermie. Laat wetenschappers er alles aan doen de 'sclerodermie'-puzzel op te lossen, maar houdt het 'proefdiervraagstuk' ook levend door te blijven zoeken naar geschikte alternatieven voor het gebruik van proefdieren.
Ik gun niemand sclerodermie: de pijn, de beperkingen en het leven met angst heeft heel veel impact op het dagelijks leven van de mens met sclerodermie en zijn/haar omgeving.

Een jonge vrouw met sclerodermie

week, gedurende vier weken geïnjecteerd worden met Bleomycine of controle zoutoplossing. De muizen zullen wekelijks gewogen worden en als maat voor de verbindweefseling zal ook de huiddikte gemeten worden. Na vier weken wordt bloed afgenomen onder verdoving, waarna de muizen worden geëuthanaseerd. Daarna zullen we huid, long, oor weefsels isoleren, en op deze weefsels histologische analyses uitvoeren. Verder worden cellen geïsoleerd uit verschillende organen (huid, long, beenmerg, bloed, milt en lymfeklieren), gekweekt en geanalyseerd. Zoals boven beschreven is SSc een ziekte met een lang en pijnlijk ziektebeloop. Patiënten hebben extreme fibrose van de huid, waarbij ook de longen, slokdarm, nieren en hart - aangedaan kunnen zijn. De ziekte leid tot een ernstige invaliditeit en vroege sterfte. De huidige medicatie is gericht op het vertragen van het ziekteproces, maar er is geen goede medicatie. Het verkrijgen van nieuwe inzichten dragen bij aan de ontwikkeling van nieuwe therapieën. De beperkte mate van ongerief weegt daarmee minder zwaar dan de kennis die verkregen kan worden.

Titel studie: Expressie en lokalisatie van peptiden en eiwitten betrokken bij het aangeboren immuunsysteem tijdens de embryonale en post-hatch ontwikkeling van de kip

DEC nummer: 2013.II.12.123

Bepalen van de aanwezigheid en locatie van eiwitten van het aangeboren immuunsysteem op verschillende momenten tijdens de ontwikkeling van de kip

Achtergrond: In de eerste weken van hun leven zijn jonge kippen extra gevoelig voor infecties met verschillende bacteriën. In de pluimveesector leiden deze infecties tot minder inkomsten doordat dieren sterven of minder dan verwacht groeien. Bovendien is veel antibiotica nodig om de infecties in deze jonge dieren te bestrijden. De reden dat deze jonge kippen zo gevoelig zijn is hun immuunsysteem, wat nog niet helemaal ontwikkeld is. Wij doen onderzoek naar twee groepen van eiwitten die belangrijk zijn in het aangeboren immuunsysteem. Wij geloven dat deze eiwitten ontwikkeld kunnen worden tot alternatieven voor behandeling met antibiotica. Maar over de rol die deze eiwitten normaal gesproken in het lichaam van de kip spelen is nog niet zoveel bekend. In deze studie willen we daarom uitzoeken of deze eiwitten in de jonge kip meer of minder aanwezig zijn dan in het volwassen dier of dat de eiwitten misschien op andere plaatsen aanwezig zijn.

Doel/hypothese: Het bepalen van de aanwezigheid en de locatie van eiwitten van het aangeboren immuunsysteem tijdens de ontwikkeling van de kip.

Globale aanpak vraagstelling: Voor dit experiment worden eieren uitgebroed en kuikens vier weken lang op een normale manier gehouden. Op zeven verschillende tijdstippen worden kuikens gedood en worden verschillende organen van de dieren verzameld. Later wordt in deze organen gekeken of de eiwitten van het immuunsysteem aanwezig zijn.

Titel studie: Protocol for Epicardial Catheter-based Ventricular Reconstruction: Conducting training of EU-surgeons in the ECVR-protocol

DEC nummer: 2013.II.12.124

Acute en chronische effecten van cardiac resynchronization therapy op aritmogenese van torsade de pointes

Achtergrond: De normale elektrische activatie van het hart leidt tot gelijktijdige samentrekking van het hart. Wanneer er een verstoring optreedt in het geleidingssysteem van het hart van bijvoorbeeld de linkerbundeltak zullen beide hartkamers niet meer gelijktijdig samentrekken en de pompfunctie verslechtert. Het is bekend dat deze assynchronie leidt tot een verhoogde kans op het krijgen van levensbedreigende Torsade de Pointes (TdP) hartritmestoornissen. Behandeling met Cardiac Resynchronization Therapy (CRT), een speciale pacemaker die er voor zorgt dat beide hartkamers weer tegelijkertijd gaan samenknijpen en de pompfunctie verbetert, zorgt er voor dat de gevoeligheid voor TdP afneemt. Het is echter niet goed bekend waardoor CRT kan zorgen voor minder gevoeligheid voor TdP.

Doel/hypothese: De belangrijkste onderzoeksvragen zijn: 1) Heeft CRT acuut invloed op de gevoeligheid voor TdP? 2) Veroorzaken lange termijn effecten die ontstaan door chronisch CRT een verminderde gevoeligheid voor TdP? 3) Is de manier waarop de elektrische activatie van het hart plaatsvindt van belang voor het ontstaan van de TdP?

Globale aanpak vraagstelling: De belangrijkste uitkomst om de onderzoeksvragen te beantwoorden is de opwekbaarheid van TdP tijdens dierexperimenteel onderzoek in een hondenmodel wat gevoelig is voor ritmestoornissen. Tijdens het eerste experiment zal een verstoring van het geleidingssysteem gemaakt worden. Het hart zal zich aanpassen aan deze nieuwe situatie en na vier weken zal de gevoeligheid voor TdP bepaalt worden (experiment 2). In het derde experiment zetten we de CRT pacemaker aan waardoor we acuut bepalen of deze behandeling invloed heeft op het ontstaan van TdP. In het vierde experiment gaan we elektrische activatie van het hart opnieuw aanpassen om te kijken of dit invloed heeft op de plek waar TdP ontstaat. Daarna zal de CRT pacemaker acht weken lang aangezet worden en vervolgens zal het laatste experiment gedaan worden om het chronische effect van CRT te meten. Alle experimenten zullen onder narcose uitgevoerd worden en er zal dofetilide gegeven worden (een medicijn dat bij mensen TdP kan veroorzaken als bijwerking). Daarom is het ethisch ook niet verantwoord om dit onderzoek bij patiënten uit te voeren en is de inzet van proefdieren noodzakelijk.

Titel studie: Cellulaire determinanten in de hond met een normaal hart ritme

DEC nummer: 2013.II.12.126

Cellulaire determinanten in de hond met een normaal hartritme

Achtergrond: Hartritmestoornissen ontstaan als gevolg van een abnormale elektrische activiteit van het hart. Dit kan worden veroorzaakt door een abnormale prikkelvorming en/of een abnormale prikkelgeleiding. Ook veranderingen in de eigenschappen van de hartcellen liggen hier vaak aan ten grondslag. Om inzicht te verwerven in deze mechanismen maken wij gebruik van een dierenmodel dat heel gevoelig is voor het ontwikkelen van hartritmestoornissen. In het verleden hebben wij reeds aangetoond dat een abnormale prikkelvorming een belangrijke rol speelt bij het ontstaan van ritmestoornissen in dit model en hebben wij de onderliggende oorzaken daarvan onderzocht. Deze studie is erop gericht om na te gaan of in dit specifieke model verstoorde prikkelgeleiding ook een rol zou spelen. Dit bestuderen we zowel in het intacte hart als op het niveau van de hartspiercel.
Doel/hypothese: Doel van deze studie is het cellulaire mechanisme van aritmieën in de hond te onderzoeken. Ons model (chronisch atrioventriculair blok, cAVB) heeft al bewezen dat het een goed model is om het mechanisme van TdP, een gevaarlijke hartritmestoornis, te onderzoeken. Op dit moment is de dataset van controle honden gelimiteerd.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie willen we graag op cellulair niveau de hartmyocyten (hartcellen) uit normale honden bestuderen en deze vergelijken met cellen uit harten van cAVB honden zodat we meer inzichten krijgen in het mechanisme van aritmieën. De hond is een geschikt dier omdat het elektrisch systeem van het hondenhart goed overeenkomt met dat van een mens. Verder is het hondenhart goed gekarakteriseerd binnen onze groep. Het dier zal onder narcose worden gebracht. Bloedafname, hart filmpje (ECG), linker ventrikel druk (LVP), rechter ventrikel druk (RVP) en aorta druk worden gemeten. Een hart echo wordt gemaakt en daarna wordt de borstholte geopend. Stukjes hart weefsels (3x) worden genomen met een speciale naald. Daarna wordt het kloppend hart eruit gesneden. Het hart wordt verder gebruikt voor cellulaire metingen (vitro). Ook worden na afloop nog grotere hartweefsels genomen voor genetische doeleinden.

Titel studie: Keuzevak immunofarmacologie

DEC nummer: 2013.II.12.127

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 Immunofarmacologie. In dit 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.

Opzet van het onderwijselement: 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 met behulp van diverse technieken de aantallen en activiteit van ontstekingscellen te kwantificeren.

ANDERE VERGUNNINGHOUDERS

Genmab

Titel studie: Onderzoek van de farmacokinetiek in kleine proefdieren

DEC nummer: 2013.II.09.100

Evaluatie van de verblijftijd in het bloed van antilichamen voor kankertherapie
Achtergrond: Dit project betreft de ontwikkeling van nieuwe therapeutische antilichamen 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 antilichamen 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) antilichaamproducten aan de eerder bepaalde verblijftijd in het bloed voldoen. Aangezien het verdwijnen van antilichamen 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 desbetreffende antilichamen worden in de bloedader toegediend waarna over een periode van twee tot zes weken bloedmonsters genomen worden voor bepaling van de concentratie.

Titel studie: Immunisatie van HuMab muizen (transgeen voor humaan IgG)

DEC nummer: 2013.II.10.112

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 preklinisch 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 tien jaar klinisch toepasbaar kan zijn.

DMSC

Titel studie: Protocol for Epicardial Catheter-based Ventricular Reconstruction: Conducting training of EU-surgeons in the ECVR-protocol

DEC nummer: 2013.II.12.125

Training voor een Epicardiale ventriculaire reconstructie-techniek in schapen met een infarct
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Het doel van het beschreven project is de training voor cardiochirurgen in verband met een nieuw ontwikkelde Epicardiale Ventriculaire Reconstructie-techniek. De training vindt plaats in schapen met en zonder infarct.
Opzet van het onderwijselement: Het voorgestelde project is een training van een nieuwe methode om een infarct in de mens te behandelen. In de te trainen nieuwe techniek wordt in schapen de hartwand gereconstrueerd. Dit gebeurt in een gevalideerd model waarbij in de schapen voor de reconstructie een infarct wordt aangelegd. In een eerste operatie wordt door middel van een coil een occlusie van een kransslagader een infarct geïnduceerd. Tijdens de training worden de randen van het infarct naar elkaar toegebracht om de pompfunctie van het hart te herstellen.

Curax

Titel studie: De dosis afhankelijke effecten van een klein moleculaire remmer van Dipeptidyl peptidase I (cathepsin C) op de ontstekingsziekte COPD

DEC nummer: 2013.II.11.113

De dosis afhankelijke effecten van een Dipeptidyl peptidase I remmer op de ontstekingsziekte COPD
Achtergrond: COPD is een ziekte waarbij de longblaasjes worden afgebroken door enzymen die uit ontstekingscellen komen. Met het kapot gaan van de longblaasjes verdwijnen er ook bloedvaten die de zuurstof moeten transporteren naar de vitale organen. Schade aan de longblaasjes leidt niet alleen tot adem te kort maar ook tot hartproblemen omdat het hart harder moet werken.
Doel/hypothese: In dit experiment testen wij een nieuw medicijn die de activiteit van deze enzymen remmen

waardoor er mogelijk minder of geen longblaasjes worden afgebroken. Hierdoor zal de longfunctie en hartfunctie stabiliseren en niet verder afnemen. Dit zou een doorbraak zijn omdat er nog geen medicijn is tegen COPD.
Globale aanpak vraagstelling: Voor dit experiment worden muizen gebruikt die behandeld worden met een bestandsdeel uit sigarettenrook waardoor er symptomen optreden zoals in de mens. Deze muizen zullen behandeld gaan worden met het nieuwe medicijn om de werkzaamheid te testen.

Lekensamenvattingen 2013

Kamer III

Anesthesie, Endocrinologie & Voortplanting,

Epidemiologie, Experimentele oncologie,

GDL- bedrijfsvoering, Heelkunde, Orthopedie,

IRAS, Voeding, Onderwijsaanvragen Diergeneeskunde

Vergadering 23 januari 2013

Titel studie: Onderwijssectio Herkauwer

DEC nummer: 2013.III.01.001

Onderwijssectio Herkauwer
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Het verkrijgen van inzicht en vaardigheid in het uitvoeren van een sectio bij het levende rund. Het betreft diergeneeskunde studenten, studierichting Landbouwhuisdieren, Herkauwers. Af en toe participeren dierenarts/docenten en in het kader van de afstemming van het onderwijs (in dat geval participeert slechts één student).
Opzet van het onderwijselement: Onder supervisie van een dierenarts en in een gecontroleerde omgeving, voert de student de sectio zelfstandig uit. Hierbij wordt er gewerkt in tweetallen waarbij sprake is van peer-teaching. Gezien het gegeven dat deze ingreep een wezenlijk onderdeel vormt voor de latere beroepsuitoefening is het legitiem om de student op deze wijze te confronteren met deze situatie en operatie. Dit betekent dat de verantwoordelijke inhoudsdeskundigen op dit vakgebied dit onderwijselement volledig (ethisch) kunnen rechtvaardigen.

Titel studie: Comparison of tumourigenicity of sorted cell populations of the human insulinoma cell line, CM

DEC nummer: 2013.III.01.002

Vergelijking van tumorvormend vermogen van verschillende celpopulaties van een insulinoom-cellijn
Achtergrond: Het insulinoom is een insuline-producerende tumor van beta-cellen uit de alvleesklier. Bij mensen met een insulinoom is de prognose na verwijdering van de tumor in 10% van de gevallen slecht, ondanks de huidige aanvullende therapieën. Bij honden met een insulinoom licht dit percentage op 95%. Het ontwikkelen van een behandeling, gericht tegen kankerstamcellen heeft dan ook een hoge prioriteit, omdat dit type stamcel zowel verantwoordelijk is voor het ontwikkelen, als het in stand houden van de tumor. Kennis over deze stamcellen is zowel van belang voor de ontwikkeling van nieuwe behandelingen tegen het insulinoom, als voor de ontwikkeling van nieuwe therapieën tegen andere typen alvleeskliertumoren en mogelijk ook tegen suikerziekte.
Doel/hypothese: Omdat stamcellen verantwoordelijk zijn voor de ontwikkeling van tumoren, is het doel van dit onderzoek om te karakteriseren in welke mate verschillende insulinoom-celpopulaties in staat zijn tumoren te vormen. Onze hypothese is dat celpopulaties die verrijkt zijn aan stamcelgenen beter in staat zijn om tumoren te vormen in vergelijking met celpopulaties zonder stamcelgenen.
Globale aanpak vraagstelling: Met behulp van zogeheten fluorescence assorted cell sorting (FACS) zijn wij in staat om uit een insulinoom-cellijn celpopulaties te isoleren

die aantoonbaar verrijkt zijn aan stamcelgenen. Hoe de expressie van deze stamcelgenen zich echter vertaalt naar een levende situatie is alleen te onderzoeken met het gebruik van een diermodel. Wij zijn daarom genoodzaakt om de verschillende celpopulaties in te spuiten bij muizen waarna in kaart zal worden gebracht of een bepaalde celpopulatie wel, of niet in staat is om een tumor te vormen in een muis. Indien blijkt dat een celpopulatie die verrijkt is aan een bepaald stamcelgen in zeer sterke mate een tumor vormt, dan vormt dat specifieke gen een interessant aangrijpingspunt om nieuwe insulinoomtherapieën tegen te ontwikkelen.

Titel studie: In vitro sensitisatie door eiwitten in het kader van voedselallergie

DEC nummer: 2013.III.01.003

De reactie tegen voedseleiwitten in vitro in het kader van voedselallergie

Achtergrond: Voedselallergie treedt vaak op bij kinderen maar ook bij volwassenen. Door onderzoek in mens en dier wordt getracht mogelijkheden en methoden te vinden om risicofactoren te onderscheiden en nieuwe therapieen te ontwikkelen. Het gebruikte model voor voedselallergie in deze aanvraag is een middel om te kijken naar de risico's van nieuwe of veranderde eiwitten op het ontwikkelen van allergie en het werkingsmechanisme hierachter.

Doel/hypothese: In deze aanvraag willen we gaan kijken of in een (gedeeltelijk) in vitro model voor voedselallergie risico's van nieuwe of veranderde eiwitten bepaald kunnen worden en wat het mechanisme hiervan is.

Globale aanpak vraagstelling: Voor het bepalen van het risico op allergie tegen nieuwe of gemodificeerde eiwitten zou naast het in vivo (muis model) ook een in vitro model gebruikt kunnen worden. Dit model bestaat uit 2 stappen: 1) Kweek van muis beenmergcellen tot dendritische cellen, en 2) injectie van muizen met voedsel eiwit (allergeen) voor stimulatie van T cellen. Hierna kunnen cellen geïsoleerd worden en in vitro gestimuleerd worden en worden samengevoegd. Om dit model te valideren wordt de reactie op een aantal verschillende eiwitten die mogelijk een verschillende allergeniciteit hebben bestudeerd en het mechanisme achter deze interactie bestudeerd.

Titel studie: De opname van voedseleiwitten in het kader van voedselallergie

DEC nummer: 2013.III.01.004

De opname van voedseleiwitten in het kader van voedselallergie

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 voedselallergie. Een van de risico's van voedselallergie is de mate van opname van het veroorzakende eiwit (allergeen).

Doel/hypothese: Het doel van deze proef is om in een muismodel na te gaan wat in de darm de opname route

is van verschillende voedselallergenen en wat de rol is van een specifieke cel (M cel) in de darm die betrokken is bij de opname van sommige eiwitten.
Globale aanpak vraagstelling: De opnameroute van verschillende voedselallergenen wordt bestudeerd door deze te volgen na toediening in de muis. De rol van M cellen wordt bestudeerd door deze cellen weg te halen uit de muis, en te kijken hoe de muizen hierna reageren op het juist niet of wel allergisch maken tegen pinda. Dit wordt gedaan in proefdieren om twee redenen: het volgen van allergenen kan alleen in een intact organisme. Het ophelderen van het werkingsmechanisme van deze opname kan ook alleen in de muis omdat dit veranderingen in het hele immuunsysteem betreft.

Titel studie: Generating tamoxifen-inducible E2F7 and E2F8 double knockout primary keratinocyte cell lines

DEC nummer: 2013.III.01.006

Identificatie van moleculaire mechanismen waardoor verschillende eiwitten het ontstaan van huidkanker remmen
Achtergrond: De huid is een essentieel orgaan dat interne organen en weefsels beschermd tegen ziektekiemen van buiten het lichaam. Onze huid wordt continue 'ververst' door het aanmaken van nieuwe huidcellen en het afsterven en verwijderen van oude huidcellen. Als deze processen ontregeld raken kan huidkanker ontstaan. Recent hebben wij aangetoond dat specifieke eiwitten een belangrijke rol in deze processen spelen en recent onderzoek heeft aangetoond dat zich meer en meer agressieve huidtumoren ontwikkelen zonder deze eiwitten.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om specifieke cellijnen te genereren van muizen waarmee de moleculaire rol van specifieke eiwitten bij het ontstaan van huidkanker in vitro bestudeert kan worden en er op ten duur minder muizen gebruikt hoeven te worden.
Globale aanpak vraagstelling: Er zijn momenteel geen huidcellijnen beschikbaar met de mogelijkheid om deze eiwitten acuut uit te schakelen, dus moeten we proefdieren gebruiken om deze specifieke cellijnen te maken. Het is belangrijk om de expressie van de eiwitten zo efficiënt mogelijk te voorkomen, dit kan alleen worden bereikt door cellen van muizen te gebruiken waar deze eiwitten acuut in kunnen worden uitgeschakeld.

Titel studie: Mechanismen van voedselallergie: interactie tussen darm epitheelcellen en intraepitheliale lymfocyten

DEC nummer: 2013.III.01.007

Mechanismen van voedselallergie: de interactie tussen darm epitheelcellen en intraepitheliale lymfocyten
Achtergrond: Voedselallergie treedt vaak op bij kinderen maar ook bij volwassenen. Middels in vitro en in vivo onderzoek in mens en dier wordt getracht mogelijkheden en methoden te vinden om risicofactoren te onderscheiden en nieuwe therapieën te ontwikkelen
Doel/hypothese: Het muizenmodel voor voedselallergie maakt gebruik van cholera toxine als middel om de muizen allergisch te maken. Cholera toxine blijkt in vitro de reactie van een cellijn van darm epitheelcellen en van

uit de darm geïsoleerde lymfocyten te veranderen. Met dit onderzoek wordt nagegaan of deze veranderingen ook optreden in de darm van muizen tijdens het induceren van voedselallergie en kan worden vastgesteld of deze veranderingen een mogelijk doel kunnen vormen voor preventie van voedselallergie. Om het mechanisme achter de veranderingen uitgebreider te bestuderen worden ook verdere in vitro studies gedaan naar darm lymfocyten en epitheelcellen en hun interactie.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden behandeld met cholera toxine, waarna binnen 24 uur verschillende celtypes uit de darm worden geïsoleerd en veranderingen in productie en expressie van signaalstoffen worden gemeten. Aangezien het afweersysteem een heel complex systeem is, met betrokkenheid van meerdere celtypes, is het nodig om vast te stellen of de in vitro bevindingen ook werkelijk plaatsvinden in vivo. Om verdere in vitro studies met darm lymfocyten te kunnen doen, moeten deze cellen vers uit de darm van muizen worden geïsoleerd.

Titel studie: mechanismen van voedselallergie: rol van PUFAs in allergische respons

DEC nummer: 2013.III.01.008

Pinda voedselallergie: rol van omega-3 vetzuren in allergische huidreactie
Achtergrond: Voedselallergie treedt vaak op bij kinderen maar ook bij volwassenen. Middels in vitro en in vivo onderzoek in mens en dier wordt getracht mogelijkheden en methoden te vinden om risicofactoren te onderscheiden en nieuwe therapieën te ontwikkelen.
Doel/hypothese: Uit voorgaand onderzoek is gebleken dat omega-3 vetzuren niet kunnen voorkomen dat antistoffen tegen pinda gevormd worden, maar ze kunnen wel de allergische huidreactie verminderen. Doel van deze proef is om na te gaan welk mechanisme hierbij betrokken is.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden op een dieet gezet dat rijk is aan omega-3 vetzuren of op een normaal dieet. Na twee weken wordt de huid van het oor ingespoten met histamine, waardoor een allergische huidreactie (oorzwelling) ontstaat, en wordt gekeken naar het verschil in zwelling tussen dieren met het verschillende dieet. Bij het optreden van een oorzwelling zijn meerdere celtypes betrokken en speelt doorbloeding een rol, waardoor dit niet in vitro kan worden bestudeerd.

Titel studie: Evaluatie in subcutane xenograft modellen

DEC nummer: 2013.III.01.009

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. Andere antistoffen worden gegenereerd met twee specifieke bindingsplaatsen, de zogenaamde bispecifieke antistof-

fen. Deze kunnen enerzijds specifiek aan kankercellen binden en anderzijds aan menselijke immuuncellen, waardoor een optimale interactie wordt bewerkstelligd tussen, immuunsysteem en kankercel. Deze bispecifieke antistoffen zijn zeer potent in het verminderen van de tumorgroei, zoals al bewezen is door andere bispecifieke antistof-formaten die in klinische ontwikkeling zijn. In celkweek wordt uitvoerig bestudeerd hoe deze 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 tumoren, 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 op die manier een completer beeld verkregen wordt. Celkweek experimenten zijn vaak beperkt tot één werkingsmechanisme, terwijl in deze dierproeven meerdere mechanismen van een antistof tegelijk een rol spelen, zoals o.a. de bloedvoorziening en het immuunsysteem.

Titel studie: Validatie Cushing diagnostiek

DEC nummer: 2013.III.01.010

Validatie van diagnostische test voor ziekte van Cushing (PPID) bij het paard
Achtergrond: Veel paarden en pony's in Nederland hebben PPID (ziekte van Cushing). De verwachting is dat meer dan 1 op de 7 paarden en pony's in Nederland boven de 15 jaar PPID heeft en ieder paard/pony kan in principe de ziekte krijgen op latere leeftijd. De oorzaak is een degeneratie in zenuwcellen in de hypothalamus (deel van de tussenhersenen) die progressief verloopt. Symptomen bestaan o.a. uit suikerziekte, hoefbevangenheid, afwijkend haarkleed en verminderde weerstand. De diagnostiek is tot op heden een uitdaging zeker in het beginstadium. Recent is aangetoond dat seizoensvariaties hormoonafscheiding en testuitslagen beïnvloeden. Daarom is er meer onderzoek nodig naar bestaande testen en een nieuwe test in de verschillende seizoenen.
Doel/hypothese: Het onderzoek heeft als doel om seizoensgebonden referentiewaarden voor het hormoon ACTH vast te stellen bij gezonde en PPID paarden en pony's, om de diagnostiek voor PPID bij het paard te verbeteren. Daarnaast wordt in dit onderzoek de bruikbaar-

heid van de TRH-stimulatietest getest, om te onderzoeken of deze test voor PPID bij het paard een bruikbare aanvulling is in diagnostiek.
Globale aanpak vraagstelling: Bij paarden/pony's (controle en PPID paarden/pony's) wordt bloed afgenomen tussen 8-10 uur 's ochtends in de herfst, de winter en eventueel ook het voorjaar ter bepaling van het hormoon ACTH. Tevens wordt bij een groot deel van de paarden/pony's (gelijk verdeeld over de groepen controle en PPID) een TRH stimulatietest uitgevoerd. De meeste paarden in het onderzoek komen uit praktijken verdeeld over heel Nederland en een aantal paarden van de faculteit worden gebruikt. Validatie van diagnostische testen kan alleen betrouwbaar uitgevoerd worden in het doeldier zelf, in dit geval het paard.

Titel studie: Praktisch onderwijs met pluimvee

DEC nummer: 2013.III.01.011

Praktisch onderwijs met pluimvee
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. Met het praktisch onderwijs aan kippen faciliteren we bij de student diergeneeskunde gedurende zowel de Bachelor als de Master fase van de opleiding a) de ontwikkeling van vaardigheden in samenhang met kennis met betrekking tot de omgang, de fixatie en het hanteren, en de uitvoering van onderzoeksmethoden aan levende kippen en b) ontwikkeling van vaardigheden in samenhang met kennis met betrekking tot het niet-afwijkende en het afwijkende dode dier.
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: Koepelaanvraag Onderwijs Departement Gezondheidszorg Paard

DEC nummer: 2013.III.01.012

Koepelaanvraag Onderwijs Departement Gezondheidszorg Paard
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Studenten diergeneeskunde dienen diverse veterinaire handelingen te leren die van belang zijn voor de uitoefening van het beroep van dierenarts.
Opzet van het onderwijs: Binnen het diergeneeskundig onderwijs zijn diverse practica ontwikkeld die studenten de kans geven om meer handvaardigheid te leren op het gebied van veterinaire handelingen.

Vergadering 27 februari 2013

Titel studie: Repair of created alveolar clefts in the goat maxilla with putty microstructured BètaTriCalciumPhosphate vs. iliac crest bone

DEC nummer: 2013.III.02.013

Het testen van Bèta Tricalcium Fosfaat in puttyvorm als botvervanger voor het repareren/vullen van gemaakte kaakspleten in de bovenkaak bij geiten
Achtergrond: Om kaakspleten bij kinderen te repareren/vullen moet er tot nu toe ergens anders uit het lichaam bot weggehaald worden. Dit 'oogsten' van eigen bot geeft vaak problemen/klachten, leidt tot een tweede operatieplek, en duurt langer. Botvervangers (botje uit een potje) zijn daarom de toekomst.
Doel/hypothese: Eerder onderzoek toonde aan dat Bèta Tricalcium Fosfaat een goed alternatief is voor eigen bot, maar nog niet vormvast genoeg is. In dit onderzoek zal de botvervanger getest worden in en volume- en vormvaste puttyvorm en worden vergeleken met het eigen bot. Doel is om aan te tonen dat het 'even goed' of beter is dan eigen bot.
Globale aanpak vraagstelling: We willen in geiten rechts en links in de bovenkaak kaakspleten maken. De ene kant vullen we met eigen bot uit de bekkenkam en de andere kant met de putty. Daarmee willen we aantonen dat deze putty een certificering waard is. Proefdieronderzoek is vereist voor certificering en dus goedkeuring om de putty bij kinderen te gaan gebruiken. Het gemaakte defect in de bekkenkam zal met een biocompatibel calciumfosfaatcement worden gedicht.

Titel studie: Onderdeel van het testonderdeel van het risico-assessment voor bijtende honden

DEC nummer: 2013.III.02.014

Onderdeel van het testonderdeel van het risico-assessment voor bijtende honden
Achtergrond: Honden die al eens gebeten hebben kunnen een risico vormen voor andere honden en voor mensen. Op basis van een risico-assessment kunnen toekomstige bijtincidenten en de kans daarop worden voorspeld bij honden die al eens gebeten hebben of waarbij de kans op bijten groot is. Een onderdeel van dit assessment is een gedragstest, en een onderdeel van deze gedragstest is een confrontatie met twee honden (een groot en een klein) van dezelfde sekse. Hiermee wordt specifiek het bijtrisico naar andere honden ingeschat. Uit onderzoek blijkt dat het noodzakelijk is de bijtgrage hond te confronteren met twee echte honden (stimulushonden), omdat gebruik van kunsthonden onvoldoende werkt.
Doel/hypothese: Het vaststellen van het bijtrisico naar honden (van dezelfde sekse).
Globale aanpak vraagstelling: De stimulushonden moeten rustig zijn en zelf niet grommen of uitvallen. De bijtgrage hond wordt aan een dubbele lijn vastgezet. De stimulushonden worden 3x aangelijnd op veilige afstand (1-2 m) voorlangs de bijtgrage hond gevoerd. Het gedrag

van de bijtgrage hond wordt vastgelegd en de stimulushond kan weer terug naar zijn /haar kennel. Jaren lange ervaring met deze testen heeft geleerd dat stimulushonden niet banger worden na en aantal testen, eerder pittiger, omdat ze leren dat een agressief doende hond in een voor hen herkenbare testsituatie niets kan doen. Het testen van het bijtrisico naar honden kan alleen valide plaatsvinden door van levende honden gebruik te maken.

Titel studie: The establishment of patient-derived xenografts of canine endocrine tumours

DEC nummer: 2013.III.02.015

Ontwikkeling van diermodellen (xenografts) voor endocriene tumoren van honden
Achtergrond: Insulinomen, borstkanker en bijniertumoren, zijn endocriene tumoren die zowel bij honden als mensen voorkomen. Ondanks de huidige aanvullende therapieën is de prognose na verwijdering van deze tumoren zowel bij honden als mensen slecht. Het ontwikkelen van een behandeling, gericht tegen kankerstamcellen heeft dan ook een hoge prioriteit, omdat dit type stamcel zowel verantwoordelijk is voor het ontwikkelen, als het in stand houden van de tumoren.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om muismodellen van honden insulinomen, borstkanker en bijniertumoren te ontwikkelen. Deze tumormodellen zijn van groot belang bij het verdere onderzoek naar kankerstamcellen en bij het preklinisch testen van nieuwe therapieën tegen kankerstamcellen.

Globale aanpak vraagstelling: In de Universiteitskliniek voor Gezelschapsdieren worden honden aangeboden voor operatie van insulinomen, borstkanker en bijniertumoren. Indien patiënt-eigenaren akkoord gaan, zullen kleine weefselstukjes van honden insulinomen, borstkanker en bijniertumoren direct na verwijdering van de tumor onder de huid van muizen worden geïmplanteerd. Deze zogeheten xenografts zullen binnen enkele maanden in de muis uitgroeien tot tumoren. De tumoren in de muis zullen zowel morfologisch als genetisch dezelfde eigenschappen hebben als de primaire tumor uit de hond. Aangezien de muis, hond en mens genetisch zeer sterke overeenkomsten vertonen, kunnen de muismodellen worden gebruikt voor het preklinisch testen van nieuwe anti-kanker medicijnen. Wij zijn genoodzaakt om muizen voor ons onderzoek te gebruiken, omdat is gebleken dat anti-kanker medicijnen die in vitro zijn getest in vivo vaak niet werken. Bovendien vormt de muis een in vivo model om tumorcellen in te kweken. Gebleken is dat tumorcellen die in vivo worden gekweekt genetisch beter op de originele tumoren lijken dan dat in vitro gekweekte tumorcellen doen. Daarom verdient een in vivo muismodel de voorkeur boven in vitro celkweek in het onderzoek naar kankerstamcellen.

Titel studie: Retinol opslag in de lever: rol LRAT en alternatieve retinol acyl-transferases

DEC nummer: 2013.III.02.016

Vitamine A opslag in de lever: Rol van specifieke enzymen

Achtergrond: Vitamine A is een belangrijke stof voor het goed functioneren van een groot aantal cellen in een organisme. Om onder alle omstandigheden te zorgen voor voldoende vitamine A heeft het lichaam een voorraad ervan in de lever en wel in een speciaal celtype, de stellaatcel. Onder normale ("rustende") omstandigheden is vitamine A in de stellaatcellen opgeslagen na koppeling aan een vetzuur in zgn. lipide druppels. Na leverschade en het daaropvolgende reparatieproces worden de stellaatcellen geactiveerd. Ze verliezen hun lipide druppels en verergeren de leverschade door het veroorzaken van leverfibrose (verbindweefseling). Het is echter nog niet bekend of de verminderde vitamine A opslag in de lever stellaatcellen van invloed is op hun activering en dus leverfibrose. Wel weten we dat zowel het enzym "LRAT" en een ander onbekend enzym een rol spelen bij de opslag van vitamine A. Stellaatcellen spelen een cruciale rol bij het ontstaan en het verloop van deze leveraandoeningen. Door in te grijpen in het functioneren van de stellaatcellen via de in dit onderzoek te identificeren eiwitten is het misschien mogelijk het proces van reparatie in de lever beter te sturen en zo leverontstekingen beter te behandelen. Daarnaast leidt vitamine A tekort tot veel aandoeningen en is kennis van de opslag van dit vitamine dus belangrijk.

Doel/hypothese: Het nieuwe onderzoek is bedoeld om inzicht te krijgen in de enzymen die belangrijk zijn voor de opslag van vitamine A in lever stellaatcellen en of de opslag van vitamine A in lipide druppels de activering van lever stellaatcellen beïnvloedt.

Globale aanpak vraagstelling: Om een beter inzicht krijgen in de manier waarop lever stellaatcellen vitamine A opslaan, willen we stellaatcellen isoleren uit muizen die een bepaald enzym missen voor de opslag van vitamine A. In die cellen willen we kijken of er nog andere enzymen vitamine A kunnen opslaan en bestuderen of die stelaatcellen anders geactiveerd worden dan cellen van normale muizen. Proefdieren zijn noodzakelijk voor dit onderzoek, omdat er geen geschikte stellaatcellijnen verkrijgbaar zijn, welke zich gedragen als stellaatcellen in de gezonde lever (Vitamine A opslag capaciteit hebben).

Titel studie: Controlled release of active compounds from TNO hydrogel in laboratory Beagle dogs with early intervertebral disc degeneration

DEC nummer: 2013.III.02.017

Evaluatie van het injecteren van TNO hydrogel 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.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is het bewijs leveren dat het gebruik van een gecontroleerd afgiftesysteem dat een ontstekingsremmend medicijn (celecoxib) bevat, het ontstekingsproces in natuurlijk gedegenereerde tussenwervelschijven effectief kan remmen. Ook moet de maximale dosis van celecoxib in de hydrogel worden gevonden die acceptabel is op histologisch niveau.
Globale aanpak vraagstelling: Per hond (Beagles) worden in 6 tussenwervelschijven in de lage rug, injecties, 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 in 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.

Titel studie: The effect and duration of effect of Intra-articularly administered corticosteroids and hyaluronic acid in osteoarthritis

DEC nummer: 2013.III.02.018

De werking en duur van werking van een injectie van corticosteroïden of hyaluronzuur in een versleten (artrotisch) gewricht
Achtergrond: De verdere verbetering van behandeling van gewrichtsslijtage (artrose) heeft hoge prioriteit met de toename van het aantal patiënten door met name het ouder worden van de bevolking. Tot op heden zijn er twee behandelingen die relatief goed werken; een injectie in het gewricht: met corticosteroïden of hyaluronzuur. Corticosteroïden hebben als kenmerk dat zij zeer snel en effectief werken maar dat de werking niet zo lang aanhoudt als hyaluronzuur dat weer vlak na injectie minder goed werkt. Het omslagpunt tussen de effectiviteit van de twee behandelingen ligt op ongeveer 8 weken. Met beide behandelingen is het zo dat de werking tijdelijk is. Omdat iedere injectie een risico op infectie met zich meebrengt, wil men deze behandeling ook niet te vaak toepassen. Het gebruik van depots in het gewricht waaruit voor een langere tijd deze middelen vrijgegeven worden, zou het langste effect opleveren. Om een voordeel van het gebruik van deze depots aan te tonen, moeten we eerst zien wat het effect is van deze middelen op de ontsteking en afbraak van gewrichtsweefsels en ook wanneer het effect van een eenmalige injectie is uitgewerkt. Daarnaast is het wenselijk om, d.m.v. nieuwe beeldtechnieken, te kunnen volgen hoe de slijtage maar ook het herstel verlopen, zodat in dier gebonden onder-

zoek minder dieren gebruikt te hoeven worden. Deze beeldtechnieken zijn gebaseerd op moleculen die licht geven nabij het infraroodspectrum en zichtbaar te maken te zijn door de huid heen.
Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is tweeledig. Op de eerste plaats willen we weten wat het effect van corticosteroïden en hyaluronzuur is op het kwaliteit van kraakbeen in het gewricht en gedurende welke tijdsperiode deze effecten waarneembaar zijn. Op de tweede plaats is de vraag of het signaal van stoffen die licht gaan geven als ze door ontstekingsenzymen worden afgebroken een goede maat is voor de ontsteking en afbraak van het kraakbeen en kan deze methode gebruikt worden i.p.v. het opofferen van dieren en op weefselniveau naar schade kijken.
Globale aanpak vraagstelling: Bij ratten wordt in beide knieën artrose geïnduceerd met collagenase (een weefsel afbrekend enzym). Vervolgens worden de dieren in een knie geïnjecteerd met placebo (fysiologisch zout) en de andere knie wordt geïnjecteerd met hyaluronzuur of triamcinolone (corticosteroïd). Na 1, 6, 11 en 16 weken worden dieren gedood, waarna het gewricht ingebed zal worden in paraffine. Er zal zo op histologisch niveau gekeken worden naar de slijtage van kraakbeen en de mate van ontsteking van het kapsel. Voor het opwekken van artrose én vlak voor het euthanaseren worden dieren na verdoving via de staartvene geïnjecteerd met de lichtgevende moleculen en met de fluorescentie imager wordt het signaal van de lichtgevende moleculen gemeten als maat voor de ontsteking. Het effect van corticosteroïden en hyaluronzuur op in vitro kraakbeenmetabolisme is al bestudeerd. Echter in vitro onderzoek liet in het verleden zal ien dat, afhankelijk van welke weefsels er nog meer mee gekweekt worden, de effecten van corticosteroïden anders zijn. Dit illustreert dat de complexe omgeving van het gewricht, met alle verschillende weefsels erin en de biomechanische belading waar het aan blootgesteld wordt, nodig is om effecten van therapeutische stoffen te bestuderen voor ze in de mens worden toegepast.

Titel studie: Holmium en immuuntherapie voor behandeling van cervixcarcinoom

DEC nummer: 2013.III.02.019

Combinatie therapie van radioactieve minuscule bolletjes en immuuntherapie
Achtergrond: Met het falen van veel therapieën voor kanker blijft het noodzakelijk om nieuwe strategieën te ontwikkelen voor betere behandeling. Gecombineerde behandeling van twee of meerdere technieken opent nieuwe mogelijkheden binnen het kankeronderzoek, waarbij naast het vinden van de optimale behandelingsstrategie, ook de wetenschappelijke kennis over de achterliggende werkingsmechanismes zal toenemen. In het geval van combinatie van radioactieve bolletjes (met een doorsnede van de helft van de doorsnede van een haar!) en immuuntherapie worden twee therapieën zo ingezet dat ze elkaar zullen aanvullen in de vernietiging van de tumorcellen.
Doel/hypothese: Onze hypothese is dat de combinatie van de weefselschade in de tumor door een lage dosis radioactieve bolletjes en de stimulatie van het immuun-

systeem door een immuuntherapie zal leiden tot een succesvolle immuunrespons tegen de uitzaaiingen in het lichaam waardoor een blijvende genezing zal optreden.
Globale aanpak vraagstelling: Zowel de immuuntherapie als de lokale toediening van de radioactieve bolletjes hebben laten zien dat ze goed werkzaam zijn tegen kanker. Echter zien we dat beide technieken vaak tekort schieten in totaal succes. De combinatie van een lokale tumorablatie-therapie en immuuntherapie kan alleen goed onderzocht worden in een complex systeem als een levend organisme. De behandeling zal onderzocht worden in een muizenmodel voor baarmoederhalskanker, waarin de immuunrespons uitstekend gemeten kan worden en de combinatiebehandeling getest kan worden. Hiervoor wordt een tumor geïmplanteerd in de flank van de muis, waarna de tumor wordt behandeld met een injectie radioactieve bolletjes en immuuntherapie.

Titel studie: Role of SOX4 in TGF-beta driven breast cancer metastasis

DEC nummer: 2013.III.02.020

De rol van SOX4 in borstkanker metastasering
Achtergrond: Borstkanker is de belangrijkste kanker-gerelateerde doodsoorzaak in vrouwen. Dit wordt voornamelijk veroorzaakt door uitzaaiingen van de borstkanker waartegen geen effectieve behandelingen mogelijk zijn. Wij hebben een eiwit geïdentificeerd, SOX4, dat een mogelijke rol speelt bij het uitzaaien van borstkanker. Uit onze in vitro proeven blijkt dat de aanwezigheid van het SOX4 eiwit in cellen noodzakelijk is voor de werking van het TGF-beta eiwit, namelijk het stimuleren van uitzaaiing van de tumor. In aanwezigheid van het TGF-beta eiwit worden cellen geactiveerd om zich los te maken op de plek waar ze zich bevinden en vervolgens via de bloedcirculatie op andere plaatsen in het lichaam nieuwe tumoren vormen. Deze gecombineerde TGF-beta-SOX4 activering is cruciaal in het proces van uitzaaiing van kankercellen en is hierdoor mogelijk een belangrijk aangrijppunt voor het bestrijden en voorkomen van uitzaaiingen.
Doel/hypothese: Het doel van de studie is te bepalen welke rol SOX4 speelt in het uitzaaien van borstkanker. Onze hypothese is dat het remmen van SOX4 (en dus lagere hoeveelheid van het SOX4 eiwit) het door TGF-beta gestimuleerde proces van uitzaaien van borstkankercellen in vivo kan voorkomen. En daarnaast dat verhoogde SOX4 expressie uitzaaiing kan versnellen.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie willen we humane borstkankercellen, welke zodanig zijn gemodificeerd zodat de TGF-beta signaleringsroute (geactiveerd door SOX4) altijd actief is, inbrengen in een muis. Wij bepalen dan de eigenschappen van deze cellen om, in de aan- of afwezigheid van SOX4, uit te zaaien naar de longen en mogelijk andere locaties (zoals bv. de botten). Omdat bij het proces van uitzaaien van borsttumoren verschillende biologische factoren betrokken zijn en die elkaar onderling beïnvloeden, zijn dit soort studies alleen in proefdieren, in dit geval in de muis, mogelijk.

Vergadering 27 maart 2013

Titel studie: Induction of the fluorescence marker (RosaYFP) in bile duct cells

DEC nummer: 2013.III.03.021

Galgangcellen van de lever (gelabeld met een fluorescente marker) vormen in kweek organoïden
Achtergrond: Uit muizenlever kunnen cellen geïsoleerd worden en in kweek gebracht worden. De cellen vormen daarbij zogenaamde organoïden. Dit zijn "celklompjes" die lang kunnen overleven. Niet alle levercellen zijn in staat te overleven en organoïden te vormen. In dit model wordt één celtype van de lever gelabeld met een fluorescente marker. Zo kan bestudeerd worden of deze cellen de cellen zijn die organoïden kunnen vormen.
Doel/hypothese: Doel: door gebruik te maken van deze muizen kunnen we zien (fluorescentie) of de gelabelde cellen in staat zijn in kweek organoïden te vormen.
Hypothese: galgang cellen vormen de gekweekte organoïden.
Globale aanpak vraagstelling: Er wordt een nest muizen gefokt met de benodigde gencombinatie. Na genotypering worden de dieren verdeeld in twee groepen (controle muizen en muizen met de gewenste genen). Op een leeftijd van 7 weken worden de muizen drie keer in de buikholte geïnjecteerd met de stof die de expressie van een fluorescente marker veroorzaakt. Op dag acht worden de muizen geëuthanaseerd en de lever wordt gebruikt om er verschillende celpopulaties uit te isoleren en in kweek te brengen.

Titel studie: Intraveneuze injectie in muizen

DEC nummer: 2013.III.03.022

Intraveneuze injectie in muizen
Achtergrond: In een belangrijk deel van onze experimenten wordt er intraveneus injecteren toegepast. Binnen onze vakgroep worden er veel dierexperimenten uitgevoerd, maar er zijn maar weinig personen die intraveneus kunnen injecteren. Dit onderwijsonderdeel is erop gericht intraveneus injecteren te leren.
Doel/hypothese: Intraveneus injecteren in muizen is lastig vanwege de kleine venen en alleen aan te leren door het zelf te doen. Allereerst zal de AIO gaan oefenen op kadavers welke geofferd zijn in het kader van een andere studie. Daarna zullen twee soorten muizen worden gebruikt met een verschillende moeilijkheidsgraad. De drie naakte muizen per medewerker zullen worden gebruikt om het eerste iv-spuiten aan te leren. De tien zwarte muizen per medewerker worden gebruikt om de techniek goed onder de knie te krijgen. Met 10 pogingen per muis geeft dit 130 pogingen per medewerker. Dit lijkt het minimaal aantal voor het met zekerheid uitvoeren van deze handeling. Globale aanpak vraagstelling: Het ongerief van de dieren is van te voren goed overwogen, door eerst gebruik te maken van kadavers uit andere studies, kan de techniek aangeleerd worden. Daarna zal er pas op levende dieren worden geoefend. Door deze vaardigheid goed aan te leren zullen in toekomstige studies de dieren zo min mogelijk ongerief ondervinden doordat de uitvoering van de iv-injecties op de juiste wijze zal worden uitgevoerd.







Foto 1: Benodigdheden voor intraveneuze injecties in muizen: restrainer en insulinespuit met fysiologische zout oplossing.

Foto 3+4: De muis wordt gefixeerd in een restrainer. Zodat het dier niet teveel kan bewegen tijdens het uitvoeren van de injectie.

Foto 5+6: Aan de achterzijde van de restrainer zit een uitsparing voor de staart. Vervolgens kan de ader worden aangeprikt. Voel je weerstand bij het uitdrukken van de zuiger dan weet je dat het bloedvat niet goed is aangeprikt. Het injecteren van de vloeistof hoort heel soepel te gaan.

Foto 7+8+9: Het intraveneus injecteren in zwarte muizen is lastiger vanwege hun gepigmenteerde huid. Daarom wordt de techniek eerste aangeleerd op witte muizen, waarbij de bloedvaten duidelijk zichtbaar zijn in de staart. Daarna mogen de studenten pas oefenen op zwarte dieren.




5


7


6


8


9

Titel studie: Optimization of combined constructs for ectopic bone formation

DEC nummer: 2013.III.03.023

Optimalisatie van gecombineerde constructen voor botvorming

Achtergrond: Gecombineerde constructen bestaande uit keramisch materiaal in combinatie met gekweekte stamcellen hebben botvorming laten zien in kleine diermodellen (muis). Echter, voordat dergelijke constructen geïmplanteerd kunnen worden, moeten de cellen opgekweekt worden in aanwezigheid van serum. Tussen verschillende batches serum die besteld kunnen worden, kunnen grote verschillen zitten, welke van invloed kunnen zijn op de overleving van de stamcellen en hun bijdrage aan botvorming in vivo. Het is daarom van groot belang om het effect van nieuwe sera batches op de gekweekte stamcellen te testen, alvorens er verder onderzoek gedaan kan worden in proefdieren. Daarnaast is het zeer wenselijk stamcellen te kunnen isoleren uit ander, meer toegankelijk, weefsel dan beenmerg. Hierbij is het van belang dat deze cellen ook uit kunnen groeien tot botvormende cellen en botvorming kunnen laten zien in een diermodel.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is de optimalisatie van drie serum batches en drie stamcelbronnen te evalueren op botvorming in een botvormend diermodel.

Globale aanpak vraagstelling: In deze studies zal een dragermateriaal gecombineerd worden met verschillende componenten om de botvorming te optimaliseren. Na zes weken zal nieuw gevormd bot 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 kijken.

Titel studie: Evaluation of therapies against tumor-associated macrophages in pancreatic and breast tumor models

DEC nummer: 2013.III.03.024

Evaluatie van nieuwe geneesmiddelen gericht tegen tumor geassocieerde macrofagen in alvleesklier- en borstkanker tumormodellen

Achtergrond: Specifieke cellen van het immuunsysteem, macrofagen, zijn aanwezig rondom tumoren. Hier kunnen zij de groei en uitzaaiing van kanker laten toenemen. Macrofagen die worden aangetrokken door tumoren, worden door de tumor zelf beïnvloedt, waardoor ze een gunstige omgeving creëren voor de tumor. Hierdoor kunnen tumoren groeien. Daarnaast helpen macrofagen bij het losmaken van tumorcellen van de tumor zelf, waardoor er uitzaaiing kan plaatsvinden. Uit literatuur is gebleken dat sommige huidige behandelingen (o.a. gemcitabine chemotherapie) macrofagen aantrekken naar tumoren. Hierdoor werkt de behandeling niet meer. Macrofagen zijn daarom een belangrijk doelwit bij het behandelen van kanker. Gemcitabine wordt gebruikt als therapie bij alvleesklierkanker en uitgezaaide borstkanker. Veel behandelde patiënten ondervinden terugval, mede door de aantrekking van macrofagen in de tumoren. In dit onderzoek willen we onderzoeken wat de rol van gemcitabine is bij het aantrekken van macrofagen.

Daarnaast hebben we recent nieuwe behandelingen ontwikkeld tegen macrofagen. Deze behandelingen zouden we willen testen in diermodellen, zodat we de tumorgroei en uitzaaiing kunnen verminderen en het effect van gemcitabine kunnen verhogen. De genoemde behandelingen bestaan uit: 1) gebruik van prostaglandine om de aantrekking van macrofagen, oorspronkelijk uit het beenmerg te remmen; 2) verhindering van de beïnvloeding van de macrofagen door tumoren. Hierbij wordt gebruik gemaakt van liposomale geneesmiddelen.
Doel/hypothese: Het doel van het onderzoek is het nagaan of er meer macrofagen aanwezig zijn na behandeling met gemcitabine in borst- en alvleeskliertumoren en of de behandelingen tegen macrofagen de tumorgroei en uitzaaiing kunnen verminderen en het effect van gemcitabine kunnen vergroten.
Globale aanpak vraagstelling: Het onderzoek zal als volgt worden aangepakt: Er zal gebruik worden gemaakt van twee soorten muizen: vrouwelijke Balb/c muizen voor borstkankertumoren en mannelijke C57/Bl6 muizen voor alvleesklierkankertumoren. De muizen zullen worden geïnjecteerd met tumorcellen, worden behandeld met geneesmiddelen, gecontroleerd worden op gezondheid, tumorgroottes zullen worden gemeten en uiteindelijk zullen de dieren geëuthanaseerd worden. Bloed en organen zullen worden verzameld. Uiteindelijk zullen de effecten van de geneesmiddelen en de verdeling daarvan in het lichaam onderzocht worden. Als eerste zal worden gekeken in hoeverre het geneesmiddel gemcitabine macrofagen aantrekt in en naar tumoren. Vervolgens zal worden onderzocht of een ander geneesmiddel (15d-PGJ2) invloed heeft op deze aantrekking van macrofagen.
Uit eerder onderzoek zijn geneesmiddelen ontwikkeld waarvan in celkweken is aangetoond dat ze effect hebben op macrofagen. Omdat deze geneesmiddelen zijn verpakt in een nanodeeltje (liposomen) zal eerst één van deze geneesmiddelen worden onderzocht op de verdeling van het geneesmiddel in het lichaam. Vervolgens zullen de effecten van beide geneesmiddelen op tumorgroei worden onderzocht in muismodellen. De ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen tegen kanker is zeer belangrijk, wereldwijd zouden er veel mensen van kunnen profiteren. Om de effectiviteit van de ontwikkelde behandelingen te onderzoeken, zijn dierexperimenten cruciaal en onvermijdbaar.

Titel studie: Signs of D-lactaemia in pigs

DEC nummer: 2013.III.03.025

Verschijnselen van verhoogd D-lactaat in bloed
Achtergrond: Op veel bedrijven in Nederland worden varkens gevoerd met brijvoer waarin bijproducten verwerkt zijn. Dit voer is meestal in meer of mindere mate gefermenteerd. Bij fermentatie wordt melkzuur (lactaat) gevormd. Lactaat kan in twee vormen aanwezig zijn: L-lactaat, dat ook door spieren gevormd wordt onder inspanning en D- lactaat. D- lactaat wordt minder snel afgebroken en experimenten bij kalveren geven aan dat een overmaat aan D-lactaat ziekteverschijnselen en/of welzijnsschade veroorzaakt.
Doel/hypothese: Het doel van deze proef is om na te

gaan of D-lactaat de ziekteverschijnselen en/of welzijnsschade bij varkens, die gefermenteerd brijvoer te eten krijgen, kan verklaren.
Globale aanpak vraagstelling: We gebruiken drie groepen van drie dieren. Drie dieren functioneren als negatieve controle en krijgen een infuus met fysiologisch zout, drie dieren functioneren als controle op lactaat en krijgen een infuus met L-lactaat, en drie dieren krijgen een infuus met D-lactaat. Gedurende 6-8 uur worden de dieren klinisch gevolgd en wordt op een aantal tijdstippen bloedgetapt om de serumconcentratie D-lactaat te bepalen, teneinde de waargenomen verschijnselen hieraan te kunnen relateren.

Titel studie: Screenen B acute lymfoblastische leukemie (B-ALL) patiënten monsters voor “in vivo groei” en “biobanking”

DEC nummer: 2013.III.03.026

Het testen van pediatrische acute lymfoblastische B cel leukemie patiënten materialen voor hun groei in muizen en het opslaan van het uitgegroeid materiaal voor later gebruik
Achtergrond: Acute lymfoblastiche B cel leukemie (B-ALL) is de meest voorkomende kanker bij kinderen. Ondanks verbeteringen in de behandeling is terugval na behandeling voor B-ALL de meest voorkomende oorzaak van kanker-gerelateerde dood in kinderen en jongvolwassenen. 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 behandel methoden. Echter, de exacte rol van deze beenmergcellen en de door deze cellen geproduceerde stoffen in de groei van B-ALL cellen in het lichaam van een individu met B-ALL is onbekend. Om te weten welke B-ALL patiëntenmaterialen het beste gebruikt kunnen worden voor deze studies en de hoeveelheid primair patiëntenmateriaal te expanderen willen wij in de deze studie deze patiëntenmaterialen uit laten groeien in een door ons nieuw ontwikkeld proefdiermodel dat het menselijk beenmerg nabootst in een muis.
Doel/hypothese: Het doel dat in dit onderzoek wordt nagestreefd is om het aantal B-ALL patiëntenmaterialen, dat in dit model uit kan groeien en bestudeerd kan worden, uit te breiden. Daarnaast worden de uitgegroeide materialen gebruikt voor opslag voor later gebruik.
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 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” of vermenselijkt muismodel maakt het wél mogelijk om de gewenste studies te doen. Hiertoe wordt er eerst in een muis een menselijke botomgeving 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.

Vergadering 24 april 2013

Titel studie: osteochondral tissue regeneration in hydrogel constructs

DEC nummer: 2013.III.03.029

Het maken van gelaagde bot- en kraakbeenconstructen van een gel

Achtergrond: Door slijtage of door een sportletsel kan kraakbeen en het onderliggende bot in een gewricht beschadigd raken. Helaas groeit hier niet spontaan weer het juiste weefsel terug. Om het tekort aan geschikt donormateriaal voor deze defecten te compenseren, zoekt de wetenschap naar alternatieven. Met behulp van kraakbeencellen en voorlopercellen (een soort stamcellen) van bot, kan men in het lab en ook in proefdieren kleine hoeveelheden van zowel bot als kraakbeen maken.

Doel/hypothese: Wij willen beide celtypes combineren in een gelaagd (een laag bot en een laag kraakbeen op elkaar gestapeld) gel construct om zo gewrichtsdefecten te kunnen repareren die bestaan uit beschadigd bot en kraakbeen.

Globale aanpak vraagstelling: Om iets functioneels te kunnen zeggen over het gedrag van cellen in het lichaam is onderzoek nodig in een klein proefdiermodel voordat deze toegepast kunnen worden in grote proefdieren of in de mens. Daarom wordt gekozen voor ratten. Hierin willen we de gelaagde constructen onder de huid implanteren omdat daar veel ruimte is en omdat we in dat model

goed de interactie tussen de bot- en kraakbeencomponent van het construct kunnen bestuderen. Ook de rol van de kraakbeencellen en de botstamcellen in weefselvorming in een complex construct kan hierin bestudeerd worden. Indien deze voorgestelde studie in ratten goede resultaten geeft, kunnen deze constructen in de toekomst bijvoorbeeld in een gewricht worden geïmplanteerd in grotere proefdieren. Hier kan de weefselvorming in een echt gewrichtsdefect bekeken worden.

Titel studie: Siramisine als behandeling voor uitzaaiend borstkanker

DEC nummer: 2013.III.03.030

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. De in dit onderzoek gebruikte muismodellen zullen hopelijk bijdragen tot het ontwikkelen van alternatieve therapeutische interventie strategieën.
Doel/hypothese: Het bestuderen van stoffen/geneesmiddelen die uitzaaiend borstkanker kunnen remmen. Dit zijn geregistreerde geneesmiddelen die op dit moment niet gebruikt worden voor de behandeling van kanker. We maken gebruik van preklinische muismodellen die een menselijke vorm van kanker nabootsen.
Globale aanpak vraagstelling: Weefsel specifieke conditionele muizen bieden de unieke mogelijkheid om tumorsuppressor genen 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 en te behandelen met experimentele middelen in de muis. Op basis van laboratorium proeven hebben we een nieuwe remmer ontdekt die onze borstkankercellen kunnen doodmaken. Omdat we denken dat dit als behandeling ingezet kan worden om uitzaaiend borstkanker te bestrijden gaan we nu deze stof (Siramisine) testen in muismodellen van uitzaaiend borstkanker die erg op de mens lijken. De tumorcellen zullen getransplanteerd worden in de muis. Hierdoor treedt tumorgroei op dat wordt gemeten met een schuifmaat. Bij een bepaalde grootte wordt de behandeling met Siramisine gestart. Het effect van de behandeling zal worden gevolgd d.m.v. tumor volume metingen en metingen naar groei van cellen d.m.v. bioluminescentie.

Titel studie: De behandeling van voedselallergie voor kippenei-eiwit met pre- en probiotica

DEC nummer: 2013.III.03.032

voedselallergie tegen ovalbumine (kippenei-eiwit)
Achtergrond: Voedselallergieën brengen vervelende klinische verschijnselen met zich mee, en zij zijn ook de 1ste stap in de “Atopic March”, een verschijnsel waarbij kinderen met voedselallergie ook gevoeliger blijken voor het ontwikkelen van andere allergische aandoeningen, zoals allergisch astma. Omdat kippenei-allergie (hen’s egg; HE), naast koemelkallergie, de meest voorkomende vorm van voedselallergie is, willen we ons voedselallergie-model gaan gebruiken voor het bestuderen van

de rol van de combinatie van pre- en probiotica in het behandelen van HE. In een eerder experiment hebben we al een duidelijk effect gezien van prebiotica, waarbij er verminderde allergische symptomen waar te nemen waren. We denken dat het toevoegen van probiotica een synergistisch effect zal hebben.
Doel/hypothese: Hypothese: Muizendiëten, gesupplementeerd met pre- en probiotica, zullen symptomen van allergie in muizen die een voedselallergie tegen hen's egg hebben doen verminderen. Ten opzichte van een dieet dat alleen met prebiotica is gesupplementeerd verwachten we een groter effect.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden gesensibiliseerd tegen ovalbumine (kippenei-eiwit), door ze vijf maal ovalbumine met cholera toxine toe te dienen. Dit gebeurd middels toediening van een oplossing met cholera toxine en ovalbumine in de maag. Na de laatste sensibilisatiestap krijgen de muizen een dieet waaraan pre- en probiotica zijn toegevoegd. Middels het meten van klinische verschijnselen en ex-vivo parameters zal bepaald worden of het toevoegen van de probiotica aan een prebiotica gesupplementeerd dieet een additief/ synergistsch effect heeft op de al eerder geconstateerde positieve (therapeutische) werking van de supplementatie met prebiotica.

Titel studie: Phosphate depeletion in dairy cows

DEC nummer: 2013.III.03.033

Fosfaat depletie bij melkkoeien
Achtergrond: In de melkveehouderij bevatten veel voedermiddelen voor melkkoeien ruim fosfaat, méér dan de melkkoeien nodig hebben. Ook al hebben koeien voor de melkproductie een grote hoeveelheid fosfaat nodig, een te rijke fosfaatvoorziening zorgt voor een verminderde opname in de darm. De verminderde opname in de darm zorgt voor een verhoogde uitscheiding van fosfaat in de mest en daarmee voor toename van de milieuvervuiling. Grote hoeveelheden fosfaat in de omgeving zorgen voor een aantasting van oppervlaktewater door overgroei van algen in de betreffende gebieden. Uit milieuoverwegingen zijn er fosfaatnormen voor de melkveehouderij opgesteld waarbij de dagelijkse fosfaat behoefte voor melkkoeien is verminderd en waardoor ook de uitscheiding via de mest is verlaagd. Deze verlaagde voedernorm lijkt te voldoen aan de fosfaatbehoefte van melkkoeien tijdens grote delen van de lactatie (NRC 2001). Alleen in de periode rond afkalven blijkt het lastig te zijn om de fosfaatregulatie op tijd op te schroeven. De continue toename van melkproductie van koeien zorgt voor een toename van de fosfaatuitscheiding via de melk waarbij waarschijnlijk aan het begin van de lactatie een steeds sterkere plotselinge daling van de fosfaatreserves in het lichaam optreed (negatieve P-balans). Deze plotselinge daling zal steeds lastiger door het fosfaatregulatiemechanisme van de koe kunnen worden opgevangen. Hierdoor zal hoogstwaarschijnlijk

steeds vaker een ernstig fosfaattekort aan het begin van de lactatie optreden bij hoogproductieve melkkoeien. Welke gevolgen dit fosfaattekort precies voor de koe en haar functioneren heeft is nog onvoldoende bekend. Spierzwakte leidend tot liggende koeien die niet meer overeind komen en verminderde functie van witte bloedcellen waardoor koeien vatbaarder zijn voor infecties zijn enkele verschijnselen, maar tot op heden ontbreken daar de wetenschappelijke data voor.
Doel/hypothese: Deze studie zal het gevolg van fosfaatarme voeding op de spierfunctie en op het afweersysteem onderzoeken. De hypotheses die zijn opgesteld zijn: 1) Fosfaat tekort leidt tot verminderde spierkracht en spierfunctie door een verminderde celmembraan stabiliteit of door verminderde energiereserves in de spiercel. 2) Fosfaat tekort vermindert de activiteit van afweercellen in koeien.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie worden tien koeien fosfaatarm gevoerd en nauwkeurig gevolgd. Bij deze dieren zal tijdens de acclimatisatieperiode vooraf, tijdens het fosfaatarme dieet en tijdens de herstelperiode de spierfunctie gemonitord worden. Hiervoor zullen moderne diagnostische methoden ingezet worden om de achtergrond van een mogelijke verminderde functie in beeld te brengen. Zo worden de spieractiviteit op celniveau en de druk in de slokdarm gemeten en zullen spiermonsters genomen worden om de samenstelling te bepalen. Om de functie van de witte bloedcellen te onderzoeken zullen bloed en melk monsters in dezelfde periode afgenomen worden waaruit de witte bloedcellen geïsoleerd worden voor verder onderzoek.

Titel studie: Behandeling op maat voor invasief borstkanker. Een pilotstudie met als doel medicijnen (Rock inhibitors) toe te dienen met een osmotische pomp

DEC nummer: 2013.III.04.034

Op weg naar een behandeling op maat voor invasief borstkanker (Rock inhibitie m.b.v. GSKi)
Achtergrond: Uitzaaiing bij borstkanker is een belangrijke doodsoorzaak onder vrouwen.
Behandeling beperkt zich momenteel tot palliatieve zorg en symptoombestrijding. De in dit onderzoek gebruikte muismodellen zullen hopelijk bijdragen tot het ontwikkelen van alternatieve therapeutische interventie strategieën. Wij hebben na zes jaar onderzoek een strategie ontwikkeld om invasief lobulair carcinoom te behandelen in de uitgezaaide fase. De nieuwe medicijnen die we nu tot onze beschikking hebben remmen het enzym Rock. Rock hebben de kankercellen nodig om te kunnen uitzaaien.
Doel/hypothese: Testen of afgifte van de osmotische pomp overeenkomt met de dosering die met een intraperitoneale injectie is gegeven. Dit is belangrijk omdat het medicijn maar kort actief is en dit medicijn dus continu gegeven moet worden.
Globale aanpak vraagstelling: Op basis van laboratoriumproeven is een betere remmer ontdekt die borstkankercellen kunnen doodmaken door inhibitie van het eiwit Rock. Omdat we denken dat dit als behandeling ingezet kan worden om uitzaaiend borstkanker te bestrijden gaan we deze remmer (GSKi) testen in muizen om te kijken of we middels de osmotische pomp dezelfde

concentraties bereiken als met een eenmalige injectie. Om dit zo goed mogelijk te doen en omdat de stof erg instabiel is, wordt deze remmer continu toegediend middels een osmotische pomp. Om te controleren of de afgifte correct is, gaan we dit testen t.o.v. een intraperitoneale injectie. De behandelde muizen worden op een gegeven moment geëuthanaseerd en de weefsels worden geanalyseerd op de aanwezigheid van de remmer. Omdat we ook in de weefsels kunnen kijken of de remmer doet wat hij moet doen, rolt er uit deze pilot de ideale concentratie remmer, die in een nieuwe aanvraag preklinisch getest zal gaan.

Titel studie: The Role of intestinal-derived Fibroblast Growth Factor 15/19 in the regulation of hepatic glucose metabolism

DEC nummer: 2013.III.04.035

Onderzoek naar alternatieve manieren om de suikerhuishouding in de lever te reguleren voor de behandeling van diabetes
Achtergrond: Recentelijk is een alternatieve signaleringsroute gevonden die de suikerhuishouding in de lever reguleert, naast de al bekende insuline-gemedieerde signaleringsroute. Dit biedt mogelijk alternatieve mogelijkheden om de insulineresistentie in diabetes patiënten te behandelen. Echter, voordat deze methode toegankelijk kan worden gemaakt voor de kliniek is beter inzicht nodig in de signaleringsroute en de effecten op andere systemen. Dit onderzoek heeft als doel om deze inzichten te verkrijgen.
Doel/hypothese: De hypothese is dat activeren van de alternatieve signaleringsroute naar de regulering van suikerhuishouding in de lever insulineresistentie in diabetes patiënten kan omzeilen en daardoor als therapie voor diabetes gebruikt kan worden. Het doel van dit onderzoek is om meer inzicht te krijgen in het werkingsmechanisme van deze alternatieve signaleringsroute.
Globale aanpak vraagstelling: In muizen zal deze alternatieve route worden geactiveerd middels een injectie van het hormoon FGF19 na een vasten periode. Op verschillende tijdspunten na injectie worden de muizen geëuthanaseerd en wordt gekeken welke eiwitten essentieel zijn in de signaleringsroute naar het reguleren van de suikerhuishouding. Vervolgens zal deze proef ook gedaan worden in genetisch gemodificeerde muizen die een belangrijk eiwit missen dat betrokken is bij de al bekende signaleringsroute van de suikerhuishouding. Dit om te kijken of dit kern-eiwit ook een rol speelt in deze alternatieve route. Het is niet mogelijk dit op een andere manier te onderzoeken dan in deze muismodellen.

Titel studie: Release profiles of intraarticularly injected microspheres loaded with corticosteroids

DEC nummer: 2013.III.04.036

Bepalen van de snelheid van afgifte van het corticosteroïd triamcinolon uit micropartikels in een rattenmodel van geïnduceerde artrose
Achtergrond: De verdere verbetering van behandeling van gewrichtsslijtage (artrose) heeft hoge prioriteit door

de toename van het aantal patiënten, ten gevolge van de vergrijzing. Injectie in het gewricht met corticosteroïden is een van de weinig effectieve behandelingen. Corticosteroïden hebben als kenmerk dat zij zeer snel en effectief werken maar dat de werking niet zo lang aanhoudt. Het gebruik van depots, zgn. gecontroleerde afgiftesystemen, in het gewricht waaruit voor een langere tijd deze middelen vrijgegeven worden, zou een verlenging van het effect kunnen opleveren. Om het gebruik van deze depots voor de behandeling van artrose effectief toe te passen, moet eerst worden nagaan hoe de afgifte van corticosteroïden verloopt in de artrotische knie. In een andere studie zal worden gekeken naar de timing van de effecten van triamcinolon, een corticosteroïd. Samen met de gegevens uit deze studie zal dit een basis zijn voor een experiment waarin naar de optimale hoeveelheid depot triamcinolon op het gewricht bekeken gaat worden.

Doel/hypothese: Het doel van deze studie is om te meten hoe snel micropartikels, gebruikt als depot voor triamcinolon, hun inhoud afgeven in een artrotische knie en dit te vergelijken met een eenmalige injectie zonder microsferen. Deze informatie, samen met de informatie over het verloop van de activiteit van triamcinolon in het remmen van artrose uit een andere studie, zal gebruikt worden in een vervolgonderzoek met als doel de remming van het verloop van artrose te verlengen door microsferen geladen met triamcinolon, waarbij op de juiste tijdspunten en met verschillende doses gekeken zal worden naar de meest effectieve dosis micropartikels om artrose te remmen.

Globale aanpak vraagstelling: Bij ratten wordt in de knieën artrose geïnduceerd met collagenase (een weefsel afbrekend enzym). Na een week wordt vervolgens in één groep in één knie een micropartikeldepot van triamcinolon geïnjecteerd en in de contralaterale controle fysiologisch zout. De tweede groep ontvangt dezelfde dosis triamcinolon direct geïnjecteerd en ook een fysiologisch zoutcontrole. Het vrijkomen van triamcinolon zal gemeten worden in het bloed. De ratten zullen na acht weken geëuthanaseerd worden, de triamcinolonconcentraties gemeten en de gewrichten zullen ingebed worden in paraffine om te kijken naar effecten op histologisch niveau. Deze testen met een klein aantal ratten (zes per groep) zijn noodzakelijk om te bepalen of de release in vivo voldoende lang optreedt om in vervolgstudies een meerwaarde van het gecontroleerde afgeven van triamcinolon in artrose aan te tonen. De afgifte van triamcinolon uit deze micropartikels is al in vitro met kraakbeencellen bestudeerd, maar zal anders zijn in vivo, waar verschillende weefsels aanwezig zijn, biomechanische belasting aanwezig is en waar eliminatie van opgeloste stoffen uit het gewricht en vervolgens het lichaam optreedt. Daarnaast wordt het biomateriaal waarvan de partikels gemaakt zijn weliswaar al als afgiftemateriaal in trials gebruikt, maar in vasculaire toepassingen. Daarom is het gebruik van proefdieren en in het bijzonder dit artrosemodel noodzakelijk.

Titel studie: Impact van SOM230 op de ontwikkeling van pancreascysten na radiofrequente ablatie van het pancreas in het varkensmodel

DEC nummer: 2013.III.04.037

Impact van SOM230 op de ontwikkeling van cysten in de alvleesklier na radiofrequente ablatie van de alvleesklier in het varkensmodel

Achtergrond: Radiofrequente ablatie (RFA) is een nieuwe manier van behandelen van tumoren. Door een naald die in de tumor wordt gestoken gaat stroom, die in de tumor wordt omgezet in hitte. Die hitte veroorzaakt dan verbranding van de tumor. Na behandeling van de alvleesklier met radiofrequente ablatie is in een eerdere dierenstudie gezien dat er cysten ontstaan in de alvleesklier. De alvleesklier produceert sappen die kunnen lekken uit de alvleesklier en zo cysten kunnen veroorzaken. Cysten in de alvleesklier kunnen meerdere complicaties bij patiënten geven. SOM230 is een geneesmiddel dat vermindering van de productie van alvleeskliersappen geeft. Dit zou kunnen resulteren in minder vorming van fistels en zo dus ook minder vorming van cysten in de alvleesklier. Hiermee zouden complicaties voorkomen kunnen worden. SOM230 kan ook remming van het hormoon IGF-1 geven. IGF-1 is een groeifactor die werkt op de meeste cellen in ons lichaam en een belangrijke rol heeft bij de celgroei en bij de herstel- en opbouwende functies van de cellen. Omdat SOM230 mogelijk effect kan hebben op dit hormoon wordt ook de concentratie IGF-1 in het bloed bepaald. Hiermee kan bepaald worden of SOM230 geen nadelige gevolgen heeft voor de celgroei en herstel.

Doel/hypothese: Preventie/Reductie van pancreascysten met SOM230 na RFA van het pancreas, bepalen van de bloedconcentratie van SOM230 en bepalen van de bloedconcentratie van IGF-1.

Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek zullen 20 varkens geopereerd worden en radiofrequente ablatie van de alvleesklier ondergaan. De helft van de varkens krijgt wel SOM230 en de andere helft niet. Na twee weken worden de dieren geëuthanaseerd. Er wordt dan in beide groepen gemeten in welke mate er cysten zijn ontwikkeld. Zo kan beoordeeld worden of in de groep die behandeld is met SOM230 een preventie of reductie van de cysten is verkregen. Aangezien het spijsverteringsstelsel van het varken grote overeenkomsten vertoont met dat van de mens is een onderzoek met varkens het meest aangewezen.

Titel studie: The influence of hydrogel, rabbit supplier, and bacterial strain on infection incidence in rabbits

DEC nummer: 2013.III.04.038

Preventie van infectie door gebruik van hydrogel als drager van antibiotica of antiobiofilm 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 infectieaantallen. 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 verbetert. 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 invloed van een hydrogel, de leverancier van dieren en verschillende bacteriestammen op infectie incidentie in konijnen.

De hypothese is dat de gel een beschermend effect zal geven en er minder infecties zullen zijn in vergelijking met de groep zonder gel. Verder zal er verschil zitten in de reactie van dieren van verschillende leveranciers op bacteriën en in meer of mindere mate een lokale infectie vertonen. Verder zal het gebruik van een andere bacterie de infectie incidentie kunnen verhogen na 28 dagen.

Globale aanpak vraagstelling: In een konijnenmodel zal onderzocht worden hoe via een nieuwe coating het ontstaan van infecties bij orthopedische protheses bestreden kan worden. 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. We gebruiken een konijnen-model aangezien de effectiviteit van deze gel nog niet bewezen is en zodoende nog niet in mensen getest kan worden. Dit model is al eerder succesvol gebruikt door onze onderzoeksgroep en ook door andere onderzoeksgroepen, waaronder uit Maastricht.

Vergadering 22 mei 2013

Titel studie: Het effect van de hulpstof chitosan glutamaat op de biologische beschikbaarheid van oxaliplatin na orale toediening in ratten

DEC nummer: 2013.III.05.039

Onderzoek naar hulpstoffen die ervoor zorgen dat anti-kanker geneesmiddelen mogelijk oraal in plaats van intraveneus (via een infuus) toegediend kunnen worden
Achtergrond: Veel anti-kanker geneesmiddelen kunnen alleen via een infuus aan patiënten worden toegediend. De reden hiervan is dat deze geneesmiddelen na inname via de mond niet worden opgenomen vanuit het maag-darm kanaal in de bloedbaan. Voor patiënten is dit erg ongemakkelijk, omdat ze voor behandeling naar het ziekenhuis moeten komen waar via een infuus(naald) het medicijn direct in de bloedbaan wordt toegediend. Dit kost de patiënt veel tijd en voelt onprettig. Daarnaast zijn dit soort behandelingen duur voor ziekenhuizen. Om het gemak voor patiënten te vergroten en de kosten van behandeling te verlagen wordt er onderzoek gedaan naar hulpstoffen die ervoor zorgen dat anti-kanker geneesmiddelen nadat ze via de mond worden toegediend, toch in de bloedbaan terecht komen. Dit vergroot het patiëntgemak, aangezien patiënten hiervoor niet naar het ziekenhuis hoeven te komen, en geen infuus hoeven te krijgen. Daarnaast verlaagt het ook de kosten in de ziekenzorg
Doel/hypothese: Als het mogelijk is om met behulp van hulpstoffen de opname van anti-kanker geneesmiddelen vanuit het maag-darm systeem naar de bloedcirculatie te vergroten, kunnen er mogelijk nieuwe anti-kanker geneesmiddelen gemaakt worden die geschikt zijn voor orale toepassing. Het doel hiervan is patiëntgemak te vergroten, en behandelkosten te verlagen.
Globale aanpak vraagstelling: De vragen die we met dit onderzoek proberen te beantwoorden zijn afhankelijk van de wisselwerking van hulpstoffen en cellen in de maag-darm wand van levende organismen, waarvan veel details nog niet bekend zijn. In het geval van dit onderzoek, wordt de wisselwerking van hulpstoffen met cellen in de maag-darm wand in ratten onderzocht. Op dit moment is er ook nog geen goede methode om dit zonder proefdieren te onderzoeken.

Titel studie: Pilotstudie naar het gebruik van stappentellers om activiteit bij kreupele en gezonde gespeende biggen te meten

DEC nummer: 2013.III.05.041

Pilotstudie naar het gebruik van stappentellers als methode om de activiteit van kreupele biggen te meten
Achtergrond: Kreupelheid is een veel voorkomend probleem in de varkenshouderij. De aandoening kan zowel door de pijnlijkheid van het proces als door een verminderde mobiliteit van het dier als een welzijnsaantasting beschouwd worden. Stappentellers zijn mogelijk een manier om de verminderde mobiliteit van kreupele varkens op een objectieve en eenvoudige manier te meten. Stappentellers worden in de rundveehouderij al routinematig gebruik om de activiteit van melkkoeien

te meten. Bij zeugen is er recent een onderzoek gedaan waarbij de activiteit van kreupele zeugen werd gemeten met behulp van een stappenteller. Bij gespeende biggen is er nog geen informatie over de bruikbaarheid van stappentellers als methode om activiteit te meten.
Doel/hypothese: Het doel van deze pilot is om de haalbaarheid van het gebruik van accelerometers als methode om de activiteit van gezonde en kreupele gespeende biggen vast te stellen. De hypothese is dat kreupele biggen minder actief zullen zijn.
Globale aanpak vraagstelling: Vijf kreupele gespeende biggen en vijf gezonde gespeende biggen krijgen een stappenteller om gedurende drie dagen (3 x 24 uur). De dieren blijven in de eigen groep in hetzelfde hok zitten. Daarnaast wordt er op deze drie dagen 3x verspreid over de dag manueel gescoord in blokken van één uur. Er wordt daarbij gescoord of het dier loopt, stilstaat, ligt, eet of drinkt. De stappentellers zullen op een veilige en betrouwbare manier aan de biggen bevestigd moeten worden. Daarom zal voorafgaand aan het eigenlijke experiment op één dag de bevestigingsmethode uit het onderzoek bij zeugen getest worden op een gezonde big. De big zal één uur met de stappenteller rondlopen om de correcte bevestiging te testen. Er zijn geen modellen die het effect van kreupelheid op de activiteit van varkens kunnen voorspellen. Activiteit kan alleen gescoord worden bij levende, bewegende dieren. Om deze redenen zien wij geen mogelijkheid om het onderzoek zonder proefdieren uit te voeren.

Titel studie: De rol van ELKS in de alvleesklier

DEC nummer: 2013.III.05.042

De invloed van het eiwit ELKS en de extracellulaire matrix op de insuline productie en het overleven van beta-cellen in de alvleesklier
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 vele eiwitten en 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 zal geprobeerd worden te begrijpen hoe het ELKS betrokken is bij de secretie van eiwitten in het algemeen en insuline in het bijzonder. Hiermee hopen we beter inzicht te krijgen hoe ELKS kan bijdragen aan de insulineproductie en het overleven van beta-cellen onder invloed van de extracellulaire matrix na isolatie uit de alvleesklier.
Globale aanpak vraagstelling: Alle experimenten zullen worden gedaan na het euthanaseren van de muizen. De eilandjes van Langerhans worden vervolgens geïsoleerd en op kweek gezet. De cellen zullen eerst ex vivo verder groeien en vervolgens worden alle experimenten, tot

twee weken na isolatie uit de gedode muis (vooralsnog leven de cellen niet langer), gedaan in deze geweekte cultuur. In de gekweekte cellen zullen verschillende DNA constructen gebracht worden, waardoor de cellen bepaalde fusie-eiwitten zullen maken, of juist de te onderzoeken eiwitten geïnactiveerd zullen worden. Hierdoor kunnen de functies van deze eiwitten, en hun onderlinge interacties, bestudeerd worden. Hiernaast worden er verschillende weefsels, (waaronder alvleesklier, long, hart, brein, nier, darm, spier, huid) uit de verschillende genetische gemanipuleerde muizen geïsoleerd om nieuwe eiwitten te identificeren die ook een rol kunnen spelen bij het overleven van de beta-cellen en de secretie van insuline.

Vergadering 19 juni 2013

Titel studie: Physiological, morphological, and molecular biological studies on the endocrine regulation of spermatogenesis in fish

DEC nummer: 2013.III.06.045

Hormonale regulatie van de zaadcelvorming bij vissen
Achtergrond: De zaadcelvorming begint met de spermatogoniale stamcel. De stamcel kan twee typen van celdeling ondergaan, de “self-renewal” deling waaruit twee nieuwe, onafhankelijke cellen voortkomen, of een differentiërende deling die twee met elkaar verbonden spermatogonia oplevert, de voorlopercellen van de zaadcellen. Het evenwicht tussen deze twee typen celdelingen wordt nauwkeurig gereguleerd: te veel self-renewal leidt tot onvruchtbaarheid omdat te weinig zaadcellen gevormd worden; te veel differentiërende delingen leiden ook tot onvruchtbaarheid omdat de voorraad aan stamcellen uitgeput raakt. De stamcellen bevinden zich in een specifieke niche. De omstandigheden in de niche bepalen of een stamcel een self-renewal of een differentiërende deling ondergaat. Er is weinig bekend over deze omstandigheden (bv. welke boodschapperstoffen zijn aanwezig en wat is hun functies). Voortplantingshormonen beïnvloeden de omstandigheden in de niche en daarmee indirect het delingsgedrag van de stamcellen.
Doel/hypothese: Het onderzoek richt zich op het ophelderen van de functie van signaalmoleculen in de

niche die onder invloed van voortplantingshormonen het delings- en rijpingsgedrag van de kiemcellen tijdens de zaadcelvorming beïnvloeden.
Globale aanpak vraagstelling: Meestal worden primaire testis weefselkweken van de zebravis gebruikt. De vissen worden in vivo niet voorbehandeld of drie weken in water gehouden waarin een vrouwelijk geslachtshormoon (oestrogeen) aanwezig is waardoor de zaadcelvorming onderbroken wordt. Er zijn geen 'echte' in vitro systemen of computermodellen beschikbaar voor het bestuderen van de zaadcelvorming wellicht omdat de zaadcelvorming een complex ontwikkelingsproces is waarbij meerdere celtypen met elkaar over een lange periode moeten samenwerken, aangestuurd door signaalmoleculen uit 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. I.v.m. een vraagstelling worden nu in vivo experimenten uitgevoerd. Volwassen mannetjes worden in 35C warm water gehouden en met busulfan behandeld, een medicament uit de kankertherapie dat snel delende cellen doodt (zoals de zaadcellen) en daarmee de zaadcelvorming stopt. Vergelijkbare experimenten zijn eerder uitgevoerd, verliepen goed en de dieren herstellen snel van de behandeling. In feite is het nu de bedoeling de herstelfase van de zaadcelvorming te bestuderen. Tenslotte worden in sommige experimenten transgene zebravissen gebruikt, die in bepaalde celtypen in de testis fluorescente eiwitten tot expressie brengen. Vervolgens kan de fluorescentie gebruikt worden om de cellen te sorteren en celtypen afzonderlijk te bestuderen.

Titel studie: Does UDP-glucose ceramide glucosyltransferase (UGCG) have a role in the synthesis of endogenous lipid antigens for iNKT cells in adipose tissue?

DEC nummer: 2013.III.06.046

Speelt UDP-glucose ceramide glucosyltransferase (UGCG) een rol bij de synthese van endogene lipide antigenen voor iNKT cellen in muizen vetweefsel?
Achtergrond: De chronische laag-gradige ontsteking die gezien wordt bij obesitas speelt een belangrijke rol bij obesitas-geassocieerde complicaties zoals insuline resistentie, type 2 diabetes. Recent is aangetoond dat Cd1d-gerestricteerde invariante (i) Natural Killer T (NKT) cellen hierbij een belangrijke rol spelen. Dit type immuuncel is uniek in dat het reageert op zogenaamde lipide antigenen. Wij hebben recent aangetoond dat muizen zonder iNKT cellen spontaan insuline resistentie ontwikkelen op een normaal dieet, dus zonder dat obesitas ontwikkeld werd. Ook vonden wij dat vetcellen kunnen fungeren als niet-professionele antigen-presenterende cellen (APC) voor iNKT cellen. Op grond hiervan concluderen wij dat iNKT cellen bijdragen aan gezond vetweefsel door communicatie met vetcellen, en daarmee insuline resistentie voorkomen. Op dit moment zijn de endogene lipide antigenen en eventuele co-stimuli die nodig zijn om iNKT cellen te stimuleren echter onbekend.

Doel/hypothese: Het doel van deze aanvraag is om te onderzoeken of UGCG een rol speelt in iNKT cell zelf-lipide antigen synthese in vetweefsel en daarmee een rol speelt in het samenspel van vetcellen en iNKT cellen.
Globale aanpak vraagstelling: Om de rol van iNKT cellen in de complexe context van vetweefsel te bestuderen zullen C57/Bl6 mannelijke muizen worden gebruikt. Deze dieren zijn hiervoor geschikt omdat ze (1) goed metabool gekarakteriseerd zijn, (2) sterk op een HFD (hoog vet dieet) reageren, (3) goed detecteerbare aantallen iNKT cellen in hun vetweefsel hebben. De dieren zullen acht weken op een LFD (laag vet dieet) of HFD gezet worden. Vanaf week drie zullen de dieren de UGCG inhibitor of vehikel toegediend krijgen via het voedsel, gedurende vier weken. In week zeven zullen de dieren een glucose tolerantietest (IP-GTT) ondergaan. In week negen zullen de dieren getermineerd worden en weefsels zullen geïsoleerd worden voor verdere analyses.

Titel studie: Can Beta-glucosyl ceramides (Beta-GLcCers) activate adipose tissue resident iNKT cells?

DEC nummer: 2013.III.06.047

Zijn Beta glucosyl ceramides (Beta-GLcCers) zelf-lipide antigenen voor iNKT cellen in vetweefsel?
Achtergrond: De chronische laaggradige ontsteking die gezien wordt bij obesitas speelt een belangrijke rol bij obesitas-geassocieerde complicaties zoals insuline resistentie, type 2 diabetes. Recent is aangetoond dat Cd1d-gerestricteerde invariante (i) Natural Killer T (NKT) cellen hierbij een belangrijke rol spelen. Dit type immuuncel is uniek in dat het reageert op zogenaamde lipide antigenen. Wij hebben recent aangetoond dat muizen zonder iNKT cellen spontaan insuline resistentie ontwikkelen op een normaal dieet, dus zonder dat obesitas ontwikkeld werd. Ook vonden wij dat vetcellen kunnen fungeren als niet-professionele antigen-presenterende cellen (APC) voor iNKT cellen. Op grond hiervan concluderen wij dat iNKT cellen bijdrage aan gezond vetweefsel door communicatie met vetcellen, en daarmee insuline resistentie voorkomen. Op dit moment zijn de endogene lipide antigenen en eventuele co-stimuli die nodig zijn om iNKT cellen te stimuleren echter onbekend.
Doel/hypothese: Het doel van deze aanvraag is om te onderzoeken of Beta-GLcCers kunnen fungeren als iNKT cell zelf-lipide antigenen in vetweefsel en daarmee een rol spelen in het samenspel van vetcellen en iNKT cellen.
Globale aanpak vraagstelling: Om de rol van iNKT cellen in de complexe context van vetweefsel te bestuderen zullen C57/Bl6 mannelijke muizen worden gebruikt. Deze dieren zijn hiervoor geschikt omdat ze (1) goed metabool gekarakteriseerd zijn, (2) sterk op een HFD (hoof vet dieet) reageren, (3) goed detecteerbare aantallen iNKT cellen in hun vetweefsel hebben. De dieren zullen tien weken op een LFD (laat vet dieet) of HFD gezet worden. In week negen zal Beta-GlcCer of een vehikel ip geïnjecteerd worden. Vijf dieren zullen 24 uur later getermineerd worden en iNKT cel aantallen zullen bepaald worden. De overige tien dieren zullen een glucose tolerantietest (IP-GTT) ondergaan twee dagen na

injectie. Deze dieren zullen in week tien getermineerd worden en weefsels zullen geïsoleerd worden voor verdere analyses.

Titel studie: Effecten van verschillende probiotica-stammen in muismodel voor voedselallergie en allergisch astma

DEC nummer: 2013.III.06.048

Rol van pre- en probiotica in immuunmodulatie in het bijzonder in allergische reacties tegen voedselcomponenten

Achtergrond: Voedselallergie en allergisch astma wordt een steeds groter probleem. De afgelopen jaren is er een voedselallergie model en allergisch astma model in de muis opgezet in ons onderzoekscentrum. Naast immunologische metingen worden ook functionele darm en/of long veranderingen gemeten. Er is veel belangstelling om allergieën te behandelen met dieet-interventies. Vooral omdat er nog geen geschikte/geijkte methodes beschikbaar zijn voor het behandelen of voorkomen van voedselallergie. Bij allergisch astma worden vaak corticosteroïden toegediend met de nodige bijwerkingen. Het verloop van voedselallergie verschilt veel van allergisch astma. Het onderzoeken van de allergie verminderende effecten van verschillende probiotica-stammen geeft een groter inzicht in het onderliggende verschillende mechanisme en kan leiden tot gerichtere dieetinterventies.
Doel/hypothese: Het ontwikkelen van specifieke therapieën gericht op het behandelen van voedselallergie en allergisch astma. Onderzoek naar het onderliggende mechanisme van allergie d.m.v. twee verschillende muis modellen; voedselallergie en allergisch astma. Een deel van de voedsel allergische kinderen groeit over de allergie heen, maar astma is een levenslang ziekteproces. Dit onderzoek geeft meer inzicht in het werkingsmechanisme van probiotica en dit kan leiden tot een meer gerichte dieetinterventie.
Globale aanpak vraagstelling: Dieren worden allergisch gemaakt voor een voedseleiwit, of huisstofmijt voor het induceren van allergisch astma. Na enkele weken worden de muizen opnieuw blootgesteld aan het eiwit of huisstofmijt. Onderzocht wordt of de diëten de allergische klachten in de muis kunnen verminderen. Door twee modellen te vergelijken krijgen we meer inzicht in het werkingsmechanisme van probiotica. Complexe pathofysiologisch veranderingen liggen ten grondslag aan het ontstaan van voedselallergie. Daarom is het intacte dier (muis) nodig. Om het aantal dieren zoveel mogelijk te beperken plannen we zoveel mogelijk dieren op één dag zodat het aantal controle groepen beperkt kan blijven, en worden er verschillende parameters in hetzelfde dier gemeten.

Vergadering 10 juli 2013

Titel studie: FOK IG 04-204

DEC nummer: 2013.III.07.049

Tijdens celdeling wordt erfelijk materiaal eerlijk verdeeld over de dochtercellen. Wanneer deze verdeling niet goed verloopt krijgen de dochtercellen ongelijke hoeveelheden chromosomen. Een groot deel van de cellen in humane tumoren hebben ongelijke hoeveelheden chromosomen (chromosoom instabiliteit). De vraag in het oncologisch onderzoek is nu of chromosoom instabiliteit een oorzaak is van kanker en/of kan bijdragen aan de ontwikkeling van kanker. Daarnaast is gebleken dat tumorcellen in kweek dood gaan als de verdeling van de chromosomen te erg verstoord wordt en verwacht men dat dat zich in het lichaam zou kunnen vertalen naar tumor regressie. Met de genetisch gemodificeerde dieren die we met deze fok zullen genereren willen we beide vragen beantwoorden; of de ongelijke chromosoomverdeling ten grondslag ligt en/of bijdraagt aan tumorvorming enerzijds en of ernstige verstoring van de verdeling zou kunnen leiden tot afname van tumorgroei anderzijds. Hier hebben we specifiek de dieren uit deze fok voor nodig, omdat ze zodanig genetisch gemodificeerd zijn dat we gecontroleerd de chromosoom verdeling in delende cellen kunnen verstoren (inductie van chromosoom instabiliteit). Het gebruik van dieren uit deze fok is dus van belang voor het verbreden onze kennis op het gebied van het ontstaan van tumoren en de behandeling van kanker.

Titel studie: Klinische evaluatie en validatie van de Echo Color Doppler techniek in de ovaria (follikels en corpus luteum) tijdens de oestrische cyclus van het rund

DEC nummer: 2013.III.07.050

Het evalueren van een nieuwe diagnostische techniek, Echo Color Doppler, bij runderen die gebruikt kan worden voor het correct voorspellen van het stadium van de eierstokcyclus en de dracht

Achtergrond: De Echo Color Doppler is een relatief nieuwe techniek binnen de voortplanting & gynaecologie (eierstok-, drachtigheidsdiagostiek) bij runderen. Het klinisch evalueren van deze techniek is een belangrijke eerste stap in de kliniek om het gebruik van Color Doppler te leren waarderen.

Doel/hypothese: Evaluatie van de Echo Color Doppler techniek bij cyclische runderen tijdens de voortplantingscyclus: het meten van de hoeveelheid 'blood flow' tijdens de groei van eiblaasjes en het gele lichaam in de eierstokken.

Globale aanpak vraagstelling: Na een selectie uit acht gesynchroniseerde koeien (dieren die in een gelijk stadium van de cyclus zijn gebracht) van zes cyclische dieren (dieren die een normale, niet verstoorde vruchtbaarheidscylcus laten zien; op basis van plasma progesteron concentraties) wordt er tijdens de oestrische cyclus

per rectum Echo Color Doppler uitgevoerd. De Doppler opnamen worden digitaal opgeslagen voor retrospectieve analyse met een software analyseprogramma.

Titel studie: The development of an animal model of local inflammation in conjunction with bone formation

DEC nummer: 2013.III.07.051

Het ontwikkelen van een diermodel van lokale ontsteking in samenhang met botvorming
Achtergrond: Voor de regeneratie van botweefsel voor wervelfusie-operaties of reconstructie van grote botdefecten wordt de transplantatie van lichaamseigen bot beschouwd als de gouden standaard. Hier zijn echter wat nadelen aan verbonden, zoals chronische bekkenpijn (het bot wordt uit de bekken getransplanteerd) en maar een beperkte hoeveelheid af te nemen bot. Er zijn dus alternatieven nodig. Een aantal klinische observaties wijzen erop dat het induceren van een gecontroleerde, lokale ontsteking mogelijk de botvorming kan stimuleren. Op basis hiervan focust steeds meer onderzoek zich op de interactie tussen het immuunsysteem en botcellen. Op dit moment is er voldoende bewijs dat bepaalde pro-inflammatoire stoffen de differentiatie van voorloper cellen kunnen stimuleren richting botcellen. Omdat de interactie van het immuunsysteem met botcellen maar deels in het lab nagebootst kan worden, kunnen dierproeven enorm veel informatie verschaffen. Naar ons inziens is er op dit moment geen geschikt diermodel beschikbaar waarin de effecten van lokale ontsteking op de bot regeneratie gesystematiseerd bestudeerd kan worden.
Doel/hypothese: Het doel is het ontwikkelen van een diermodel waarmee op gestandaardiseerde wijze, verschillende pro-inflammatoire stoffen getest kunnen worden voor hun effect op de botvorming. daarnaast zal m.b.v. het model onderliggende mechanismen van botvorming bestudeerd worden. Als een eerste stap zal een pilot studie gedaan worden om het beste model van botvorming te kiezen voor vervolg studies. In deze vervolgstudies zal in het gekozen model lokale ontsteking geïnduceerd worden en wordt het model verder uitgewerkt. De botvorming wordt hier geïnduceerd door een keramisch materiaal (biphasic calcium phosphate, BCP) onderhuids of in de spier in de rug van de dieren te implanteren. Het is reeds aangetoond dat deze dragermaterialen botvorming stimuleren in zacht weefsel. Dit dient dus als versimpeld model van de botvorming in de werkelijke bot locatie.
Globale aanpak vraagstelling: De primaire uitkomstmaat in deze studie is de hoeveelheid botvorming gevormd in zacht weefsel na een aantal weken implantatie van de BCP. Hiervoor zullen een aantal condities vergeleken worden in een minimaal aantal ratten en konijnen. Voordeel van het konijn t.o.v. de rat als modeldier is de grootte (mogelijk meer condities testen per dier en daarom minder dieren nodig) en daarnaast is er in konijnen meer botvorming te verwachten. Muizen zijn te klein om meerdere condities per dier te testen. Om het model zo simpel mogelijk te houden, wordt het gebruik van cellen of groeifactoren zoveel mogelijk vermeden. Botvorming

in zacht weefsel met een dragermateriaal alleen lijkt voor de rat lastig, voor de konijn is de kans wat groter. De locatie voor de implantatie zal ook getest worden. Zo is de gedachte dat het spierweefsel meer doorbloed is, waardoor botvorming hier sneller zal optreden in vergelijking met het onderhuidse weefsel. Ten slotte kan het creëren van een geïsoleerde holte (zogenaamde 'pseudo-membraan') waarin botvorming plaatsvindt, voordelen bieden voor ons onderzoek. Mogelijk kan in een later stadium een meer gelokaliseerde ontsteking geïnduceerd worden en wordt het makkelijker de ontstekingsreactie te analyseren. Samenvattend zullen we dus een antwoord krijgen op de volgende keuzes omtrent het beste model: 1) modeldier: rat vs. konijn, 2) locatie waar de botvorming bestudeerd wordt: onderhuids vs. spierweefsel, 3) methode van implantatie van het dragermateriaal: directe implantatie vs. implantatie in 'pseudo-membraan', 4) bot inductie methode: 'kaal' model (alleen BCP) vs. toevoeging van groeifactor (BMP-2)/botvormende cellen (MSCs).

Titel studie: Koepelaanvraag Gezelschapsdieren

DEC nummer: 2013.III.07.052

Koepelaanvraag Gezelschapsdieren
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Gedurende de studie Diergeneeskunde volgen studenten in verschillende fases van hun studie diergebonden onderwijs zodat zij de noodzakelijke kennis en praktische handvaardigheden kunnen opdoen met verschillende diersoorten die nodig zijn voor het kunnen uitoefenen van het dierenartsenvak. Het diergebonden onderwijs wat onder deze koepelaanvraag valt bestaat in grote lijn uit het leren hanteren en onderzoeken van de verschillende diersoorten. Het is daarbij belangrijk om te weten dat de benadering van dieren per soort kan afwijken, waardoor de grote variatie in diersoorten te verklaren is. Naast het leren hanteren en onderzoeken van de diverse diersoorten, worden ook "eenvoudige" ingrepen geoefend. Onder deze eenvoudige ingrepen wordt o.a. verstaan het leren geven van injecties en het afnemen van bloed.
Opzet van het onderwijs: Praktiserende dierenartsen dienen voordat een diagnose gesteld en een therapie ingesteld kan worden, een volledig lichamelijk onderzoek uit te voeren bij de aangeboden patiënten. Het curriculum voor de studenten diergeneeskunde bevat, naast de nutsdieren (paard, koe, varken, kip) ook de huisdieren hond en kat en de huis-en hofdieren waaronder vogels, konijn, fret, reptielen, etc. Het klinisch diagnostisch onderzoek is daarmee de fundering voor een goede opleiding tot dierenarts. Onder het volledig lichamelijk onderzoek valt vooral het algemeen onderzoek (ademhaling, pols, temperatuur, slijmvliezen, lymfeknopen) en onderzoek van longen, maagdarmstelsel, nieren en geslachtsorganen, melkklieren, huid en beharing, locomotie-apparaat, zenuwstelsel, ogen en oren. Het onderzoek aan deze orgaansystemen vindt op zodanige wijze plaats dat het nooit de patiënt benadeelt, maar juist afwijkingen (indien aanwezig) bij de patiënt aantoont om daarna hiervan nader onderzoek (laboratorium-, röntgenonderzoek etc.) in te stellen. Dit nader onderzoek valt buiten het bestek van dit studentenonderwijs. Training in het onderzoek wordt uitgevoerd bij gezonde dieren die

hiervoor speciaal op het Departement Geneeskunde van Gezelschapsdieren worden gehouden, waarbij het aantal dieren van één diersoort borg staat voor een laagfrequente inzet voor dit onderwijs. Het onderzoek wordt uitgevoerd bij het dier bij volledige bewustzijn. Om verwondingen van dier of onderzoeker te voorkomen is het in voorkomende gevallen noodzakelijk het dier vast te houden of te fixeren. De wijze waarop het lichamelijk onderzoek uitgevoerd dient te worden, staat in het standaardboek gedetailleerd beschreven en wordt op beschikbare video's en de aanwezige dierenarts-instructeur gedetailleerd vertoond.

Vergadering 28 augustus 2013

Titel studie: Gewrichtsdistractie en homeostase in het gewricht: een pilot studie

DEC nummer: 2013.III.08.054

Gewrichtsdistractie en gewrichtshomeostase: een pilot studie

Achtergrond: Artrose (gewrichtsslijtage) is een aandoening die een steeds groter gedeelte van de bevolking treft. Genezing is (nog) niet mogelijk. De behandeling van artrose bestaat uit het bestrijden van de klachten en uiteindelijk is de enige optie een gewrichtsvervangende operatie, die zolang mogelijk wordt uitgesteld. Met gewrichtsdistractie, het tijdelijk iets uit elkaar (2 mm) trekken van het knie gewricht, denken wij een behandeling te hebben gevonden die niet alleen klachten bestrijdt maar ook het gewricht geneest. Het precieze mechanisme is echter onduidelijk. Vermoedelijk speelt gewrichtshomeostase, de balans tussen afbrekende en opbouwende stoffen, een belangrijke rol bij het weefselherstel waarbij gewrichtsdistractie voor de juiste biochemische omstandigheden in het gewricht zorgt.
Doel/hypothese: De verwachting is dat gewrichtsdistractie tot een veranderde gewrichtshomeostase leidt welke gunstig is voor kraakbeenherstel.
Globale aanpak vraagstelling: Het model maakt gebruik van in het dier ontwikkelde artrose in honden knieën volgens een bestaand geaccepteerd model. Na tien weken zal er distractie (uit elkaar trekken) m.b.v. een

frame op een knie worden aangebracht bij vier dieren. Vier weken nadat het frame is aangebracht zullende gewrichten geanalyseerd worden. Als controle wordt er een groep dieren meegenomen waar alleen artrose is aangebracht. Bij de analyse van kniegewrichten zullen de verschillende weefsels, zoals bot, kraakbeen en synovium (binnenbekleding van de knie), onderzocht worden op verandering van de stoffen die betrokken zijn bij afbraak en opbouw van het weefsel (collageen en proteoglycanen beide belangrijke bouwstenen van kraakbeen, groeifactoren, ontstekingsfactoren, etc.). Dit kan niet goed met laboratorium onderzoek aangezien artrose niet een ziekte is van één weefsel, maar een ingewikkelde mechanische en biochemische interactie kent tussen de verschillende weefsels aanwezig in de knie zoals bot, kraakbeen en synovium. Ook in de humane setting zijn de onderzoeksmogelijkheden beperkt en kan slechts indirect (imaging en biomarkers) een idee worden verkregen van wat er gebeurd met de homeostase in het gewricht. Hierdoor is het gebruik van een diermodel noodzakelijk. Door het experiment gefaseerd uit te voeren en eerst een pilot te doen verwachten we betrouwbaar een uitspraak te kunnen doen of er veranderingen optreden in de homeostase en of het waard is om het experiment verder uit te breiden.

Titel studie: Training of intravenous injection and bronchalveolar lavage

DEC nummer: 2013.III.08.055

Oefenen van intraveneuze injectie in de staartader; en oefenen van uitspoelen van de longen
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Doel is om nieuwe medewerkers (m.n. aio's) die dierproeven uitvoeren te leren hoe ze muizen via de intraveneuze route kunnen immuniseren en hoe ze materiaal uit de longblaasjes kunnen verzamelen.
Opzet van het onderwijselement: Deelnemers zullen onder begeleiding intraveneuze injectie oefenen. Hierbij zal blauw gekleurd PBS in de staartader gespoten worden. Na vijf maal oefenen zullen de muizen gedood worden en vervolgens gebruikt worden om het verzamelen van materiaal uit de longblaasjes te oefenen.

Titel studie: Genereren van muizen met gehumaniseerde scaffolds

DEC nummer: 2013.III.08.056

Genereren van muizen met gehumaniseerde scaffolds
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 rechtstreeks in de gehumaniseerde omgeving in de onderhuids geplaatste scaffolds worden ingespoten of de stamcellen kunnen hun weg daar naar toe vinden,

nadat ze in de bloedbaan 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. (Groen et al Blood, 31 mei 2012). 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.
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 keramische 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: In vitro activation of the regenerative capacity of Liver Progenitor Cells used for cell transplantation

DEC nummer: 2013.III.08.057

In vitro activatie van de regeneratie capaciteit van leverstamcellen
Achtergrond: In de westerse wereld leiden steeds meer mensen aan lever cirrose, waarvoor de enige behandeling momenteel transplantatie van de gehele lever is. Deze patiënten zouden gebaad zijn bij regeneratie van de lever door stamcel transplantatie. Leverstamcellen van de rat, muis en mens hebben bewezen na transplantatie een geringe hoeveelheid functioneel leverweefsel te kunnen vormen. Echter, de meeste studies toonden dat de efficiëntie van zo´n stamcel transplantatie veel te laag is voor de kliniek. In de enige studie waarbij transplantatie van leverstamcellen effectief bleek werden leverstamcellen gebruikt uit een donor lever die eerst zelf beschadigd was. Door deze beschadiging van de lever werden de stamcellen reeds in de donorlever geactiveerd om te regenereren, wat vervolgens doorging in de ontvangende lever na transplantatie. In deze studie willen we liganden identificeren die in staat zijn de leverstamcellen in vitro te activeren.
Doel/hypothese: Toevoeging van liganden tijdens het opkweken van leverstamcellen voor transplantatie kan de regeneratieve capaciteit verhogen.
Globale aanpak vraagstelling: Om de regeneratieve capaciteit van leverstamcellen te activeren worden verschillende groeifactoren getest door ze toe te voegen aan het kweekmedium waarin de leverstamcellen voor trans-

plantatie worden vermeerderd. De groeifactoren worden zorgvuldig geselecteerd op basis van de verschillende criteria. Ten eerste wordt door in vitro testen vastgesteld welke groeifactor/receptor paren een gunstig effect kunnen hebben op de proliferatie (snelle vermenigvuldiging) van leverstamcellen. Bovendien wordt gekeken welke groeifactor/receptor paren een rol spelen tijdens in vivo leverregeneratie door de genexpressie in de beschadigde lever en die in geactiveerde stamcellen te vergelijken. Ten slotte wordt in de literatuur bevestiging gezocht dat de groeifactor/receptor paren een rol spelen tijdens leverherstel en/of, onder pathologische condities, bij metastase naar de lever. Na hun blootstelling aan de groeifactoren wordt gemeten hoe goed de leverstamcellen bijdragen aan de vorming van functioneel leverweefsel na transplantatie. Hiertoe moeten de behandelde cellen in de omgeving gebracht worden waar ze hun werk moeten doen: de lever. Aangezien deze omgeving niet kunstmatig in vitro kan worden nagebootst, worden hiervoor genetisch gemodificeerde muizen gebruikt die het gen FAH missen en acuut leverfalen ontwikkelen, tenzij de stof NTBC aan hun drinkwater wordt toegediend. Aan deze muizen worden via de mild de verschillende behandelde leverstamcellen toegediend, en de toediening van NTBC wordt gestaakt. Hierdoor gaan de eigen levercellen dood, maar kunnen de getransplanteerde levercellen, die wel het gen FAH dragen, zorgen voor regeneratie van de lever. Nadien wordt gemeten hoeveel FAH positieve cellen in de lever zijn gegroeid en kan worden vastgesteld welke voorbehandeling (met groeifactoren) de efficiëntie van celtransplantatie verbeterd.

Titel studie: Generation of porcine embryonic stem cells (Vitro Meat)

DEC nummer: 2013.III.08.058

Genereren van embryonale stamcellen van varkens embryo's

Achtergrond: Aan de hedendaagse productie van consumptievlees zijn omvangrijke en structurele problemen verbonden. Bij de intensieve veeteelt in de Westerse economieën gaat het hierbij om schadelijke milieueffecten, gezondheidsrisico's (voor mens en dier) en ethische vraagstukken. Ook het oppervlaktebeslag en de toenemende druk op natuurlijke hulpbronnen (zoals schoon water), die voor de productie van vlees nodig zijn, worden als steeds problematischer ervaren. De totstandbrenging van een rigoureus gewijzigde vleesproductietechnologie kan al deze problemen wegnemen. De kerngedachte achter het Vitro Meat project is om het feitelijke vleesproductieproces - dat tot op heden altijd in vivo plaatsvindt (i.c. als spierweefselgroei binnen opgroeiende slachtdieren) - op basis van stamceltechnologie, volledig gecontroleerd, buiten het lichaam (ex vivo) te laten plaats vinden. De recentelijk gepresenteerde hamburger bewijst dat het mogelijk is om spiercellen te laten delen en deze te verwerken tot consumptievlees. Echter is deze vorm van vermeerderen erg inefficiënt en is het nodig om steeds weer nieuw materiaal te verzamelen van dieren. Embryonale stamcellen kunnen zichzelf vernieuwen en daarom is het niet nodig steeds nieuw weefsel te verzamelen. De vernieuwingscapaciteit van embryonale stamcellen en delingssnelheid is ook groter dan van adulte stamcellen wat onderzoek naar de tot-

standkoming van deze cellen rechtvaardigt.
Doel/hypothese: Doelstelling van het Vitro Meat project is om de benodigde technisch-wetenschappelijke kennis op te bouwen en zo een efficiënte, economisch aantrekkelijke en duurzame industriële technologie tot stand te brengen, waarmee in een gecontroleerd kringloopproces gezond, veilig en kwalitatief hoogwaardig consumptievlees uit dierlijke stamcellen kan worden gekweekt. Hiervoor moeten nieuwe werkingsprincipes worden gevonden en gevalideerd voor het hele proces van dierlijke stamcelisolatie, ongedifferentieerde stamcelvermeerdering, primaire celkweek en 3D stamceldifferentiatie in plantaardige kweekmedia, ter voorbereiding op toekomstige grootschalige industriële vleeskweek.
Globale aanpak vraagstelling: De kwaliteit, bruikbaarheid en de kans op de succesvolle verkrijging van een embryonale stamcellijn van varkens is groter bij in vivo embryo's (verkregen uit varkens) dan uit in vitro embryo's (gekweekt in het lab). Hiervoor zullen berige zeugen worden geïnsemineerd en na acht dagen worden gedood, zodat de ontstane embryo's (stadium dag 7 - 8) uit de uterus kunnen worden gespoeld en met verschillende condities gekweekt worden, zodat er embryonale stamcellen ontstaan.

Titel studie: Improving skeletal muscle cell differentiation of adult stem cells (Vitro Meat)

DEC nummer: 2013.III.08.059

Verbeteren van de differentiatie van spierstamcellen
Achtergrond: Aan de hedendaagse productie van consumptievlees zijn omvangrijke en structurele problemen verbonden. Bij de intensieve veeteelt in de westerse economieën gaat het hierbij om schadelijke milieueffecten, gezondheidsrisico's (voor mens en dier) en ethische vraagstukken. Ook het oppervlaktebeslag en de toenemende druk op natuurlijke hulpbronnen (zoals schoon water), die voor de productie van vlees nodig zijn, worden als steeds problematischer ervaren. De totstandbrenging van een rigoureus gewijzigde vleesproductietechnologie kan al deze problemen wegnemen. De kerngedachte achter het Vitro Meat project is om het feitelijke vleesproductieproces - dat tot op heden altijd in vivo plaatsvindt (i.c. als spierweefselgroei binnen opgroeiende slachtdieren) - op basis van stamceltechnologie, volledig gecontroleerd, buiten het lichaam (ex vivo) te laten plaats vinden. De recentelijk gepresenteerde hamburger bewijst dat het mogelijk is om spiercellen te laten delen en deze te verwerken tot consumptievlees. Echter is deze vorm van vermeerderen erg inefficiënt en is het nodig om steeds weer nieuw materiaal te verzamelen van dieren. De delingscapaciteit van stamcellen is groter, maar nog belangrijker is het feit dat deze cellen zichzelf kunnen vernieuwen en het daarom niet nodig is om nieuw materiaal te verzamelen. Tevens kan de kennis over de differentiatie van spier stamcel naar spier gebruikt worden in het hele proces van embryonale stamcel tot spiercel.
Doel/hypothese: Door middel van factoren de spiercel differentiatie bevorderen.
Globale aanpak vraagstelling: Voor de geboorte worden alle organen ontwikkeld. Zo ook de spieren. Na de geboorte zijn er enkele stamcellen die in het geval van weefselschade voor herstel kunnen zorgen. In dat geval

gaan deze cellen delen (prolifereren) en krijgen zij een nieuwe identiteit als functionele spiercel (differentiëren). Helaas neemt het aantal van deze spierstamcellen tijdens het leven af, vandaar dat wij graag zo jong mogelijke varkens gebruiken. Het dierproef gedeelte van het experiment is het doden van de dieren. De feitelijke experimenten worden op postmortem weefsel uitgevoerd.

Titel studie: The role of FXR and female hormones in protection against liver cancer

DEC nummer: 2013.III.08.060

De rol van geslachtshormonen en galzouten in de bescherming tegen het ontstaan van hepatocellulair carcinoom

Achtergrond: Leverkanker komt 2,4 keer vaker voor bij mannen dan bij vrouwen. Dit verschil wordt waarschijnlijk veroorzaakt door geslachtshormonen. Ook is beschreven dat verstoring van de galzout huishouding leverkanker tot gevolg heeft in muizen.
Doel/hypothese: Onze hypothese is dat door een interactie tussen geslachthormonen en galzouten de lever beter beschermd is tegen het ontstaan van hepatocellulair carcinoom.
Globale aanpak vraagstelling: Heptocellulair carcinoom zal chemisch geïnduceerd worden in mannelijke en vrouwelijke muizen met en zonder verstoorde galzout huishouding. Het ontstaan, almede de ernst van hepatocellulair carcinoma zal worden onderzocht in jonge dieren op geslachtrijpe leeftijd. Het is niet mogelijk dit op een andere manier te onderzoeken dan in muismodellen.

Titel studie: Optimalisatie van graft-versus-tumor effecten in gehumaniseerde tumoromgeving

DEC nummer: 2013.III.08.061

Ontwikkeling en verbetering van effectieve en veilige immuuntherapie voor verschillende soorten kanker van bloed en beenmerg in een "gehumaniseerd" muizenmodel

Achtergrond: Kanker kan effectief 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 specifieke interacties van tumorcellen met de cellen van de micro-omgeving waarin deze tumoren groeien. Hierdoor worden de tumorcellen beschermd tegen eliminatie door de donor afweercellen.
Doel/hypothese: Muizencellen zijn slechts in beperkte mate 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 alleen onderzocht kan worden in 'reageerbuizen'. Daarom moeten sommige studies in proefdieren worden uitgevoerd. De muizen die wij voor deze studies willen inzetten, en vooral door het inbrengen van een 'humane

omgeving', bieden de noodzakelijke mogelijkheid om therapieën met humane cellen te testen alvorens toepassing in mensen plaats kan vinden. In de experimenten in dit onderzoek brengen we zogenaamde 'scaffolds' (bakvormige structuren van bot-mineralen) in op de rug van de muizen. Deze scaffolds zijn van te voren begroeid met menselijke cellen uit de tumoromgeving, met name beenmergweefsel. Daarna zijn er menselijke tumorcellen in deze begroeide scaffolds geplaatst, welke na implantatie in de muizen zullen gaan uitgroeien. Vervolgens behandelen we de muizen met afweercellen van gezonde donoren, we onderzoeken hier welke toedieningsroute (intraveneus of rechtstreekse injectie in de scaffolds) en welke celdosis tot een optimaal effect leiden. Bovendien onderzoeken we of de extra toediening van een medicament dat de therapie-resistentie van de tumorcellen opheft, dan wel het gebruik van bepaalde gemodificeerde afweercellen in plaats van 'gewone' donor afweercellen, extra effectief is in de antitumor behandeling bij deze muizen. Daarnaast onderzoeken we in een apart experiment of we in speciaal daarvoor ontworpen muizen d.m.v. eiwit-immunisaties afweercellen kunnen opwekken die specifiek gericht zijn op die bepaalde eiwitten die mogelijk op verschillende tumoren voorkomen. We kunnen dan vervolgens analyseren of deze opgewekte afweercellen effectief kunnen zijn voor de behandeling van deze tumoren.

Vergadering 25 september 2013

Titel studie: Onderwijslaparotomie herkauwer

DEC nummer: 2013.III.09.062

Buikoperatie rund
Achtergrond/leerdoel/doelgroep: Het doel hiervan is dat studenten in het (voor)laatste jaar van de studie in tweetallen getraind worden in de oriëntatie van de ligging van de verschillende buikorganen bij het rund middels het uitvoeren van een buikoperatie aan de rechterzijde. Opzet van het onderwijselement: In tweetallen wordt onder leiding van een ervaren chirurg de hele procedure (voorbereiding, anesthesie, operatie, recovery en nabehandeling) geoefend, zoals die ook in de praktijk wordt uitgevoerd. Achtereenvolgens wordt het rund gewassen, op de operatieplaats geschoren en wordt een anesthesie toegepast. Via een buiksnede wordt de gehele buik "bezocht" waarbij de ligging van de verschillende organen wordt onderwezen. Na sluiting van de wond staat het dier tien dagen onder controle.

Titel studie: Controlled release of FK506 by microspheres in horse joint

DEC nummer: 2013.III.09.063

Behandeling van artrose met behulp van biomateriaal
Achtergrond: 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.
Doel/hypothese: Door microspheres te ontwikkelen die FK506 (een artrose remmend geneesmiddel) kunnen afgeven voor een langere periode in paarden gewrichten, hebben wij een potentiële nieuwe behandeling voor paarden en mensen met artrose ontwikkeld.
Globale aanpak vraagstelling: Het is gebleken dat de microspheres veilig zijn om te injecteren in het gewricht van paarden. Nu zal worden gekeken naar de duur van FK506 afgifte.
De microspheres zijn met een artrose remmend geneesmiddel geladen, namelijk FK506. Ook willen wij onderzoeken hoe de microspheres zich verhouden ten opzichte van een bestaande behandeling. 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. Aangezien wij bezig zijn met het ontwikkelen van een nieuwe behandelingsstrategie voor paarden met gewrichtsproblemen, is het nodig dit uit te voeren in het dier waar de strategie voor ontwikkeld wordt.

Titel studie: Reaction of inflammatory cells in the liver after radio frequency ablation in mice

DEC nummer: 2013.III.09.064

Reactie van ontstekingscellen in de lever na radio frequency ablation in muizen
Achtergrond: Levertumoren zijn de derde kanker gerelateerde doodsoorzaak, wereldwijd. Ze treden vaak op bij leverontstekingen, hepatitis. In eerdere studies werd aangetoond dat er een relatie lijkt te bestaan tussen de vorming van levertumoren in muizen waarbij enkele genen afwezig zijn en het veroorzaken van leverschade. Opvallend was dat in de muizen die tumoren ontwikkelen meer ontstekingscellen werden aangetroffen in het overgangsgebied tussen gezonde lever en de beschadigde lever. In deze studie zullen we in een beperkte groep muizen de aanwezigheid en activiteit van ontstekingscellen bestuderen.
Doel/hypothese: Met deze groep muizen zullen we analyseren welke ontstekingscellen het meest reageren (verwacht: macrofagen) en op welk tijdstip (verwacht drie weken na RFA). Daarnaast zal een analyse gemaakt worden van het bloed om te bepalen welke mediatoren in verhoogde mate geproduceerd worden (verwacht TGF-beta, interleukines 6 en 17).
Globale aanpak vraagstelling: Bij muizen wordt (onder anesthesie) mechanisch een van de leverlobben beschadigd (met necrose als gevolg). Één, drie en zes weken na operatie worden de muizen geëuthanaseerd om te onderzoeken welke moleculaire mechanismen ten grondslag liggen aan de reactie van de vitale lever op de necrose. Het model dat gebruik maakt van deze muizen

is eerder met succes toegepast. Voor de reactie van vitale levercellen is ook de omgeving van gezonde (lever) cellen en organen essentieel. Dit is in een celkweek systeem niet te bereiken.

Titel studie: Rol van ATGL in de afbraak van lipide druppels en activering van de hepatische stellaatcel

DEC nummer: 2013.III.09.065

Rol van het vetafbrekende eiwit ATGL bij littekenvorming in de lever

Achtergrond: Leverbeschadiging kan leiden tot littekenvorming (fibrose) door het activeren van een speciaal soort cellen in de lever de zgn. stellaatcellen. In een gezonde lever zijn deze stellaatcellen betrokken bij de opslag van vitamine A en hebben daarvoor grote vetdruppels. Als er beschadiging van de lever is, worden de stellaatcellen actief en gaan de vetdruppels afbreken. Men denkt dat als de stellaatcellen hun vetdruppels niet kunnen afbreken, ze ook niet actief kunnen worden en littekenweefsel kunnen vormen. Door er achter te komen welk eiwit verantwoordelijk is voor de afbraak van de vetdruppels wordt het mogelijk om gerichter geneesmiddelen te ontwikkelen die leverfibrose remmen.
Doel/hypothese: Deze studie probeert er achter te komen of het eiwit ATGL, dat een rol speelt bij de vetafbraak in vetweefsel, ook betrokken is bij de vetafbraak in de stellaatcellen van de lever.
Globale aanpak vraagstelling: Om erachter te komen of het eiwit ATGL belangrijk is bij de vetafbraak in lever stellaatcellen na lever beschadiging gaan we die stellaatcellen isoleren uit gezonde muizenlevers. De activatie van de stellaatcellen ontstaat pas na kweken in het laboratorium. Dan kunnen we de afbraak van de vetdruppels bepalen in normale geactiveerde cellen. Door hetzelfde te doen bij stellaatcellen die geïsoleerd zijn uit muizen die het eiwit ATGL niet hebben (ATGL knock-out muizen) kunnen we vast stellen of ATGL belangrijk is voor de vetafbraak. Mocht dit zo zijn, dan kan in vervolg onderzoek remmers van ATGL ontwikkeld worden voor gebruik tegen leverfibrose. Op dit moment zijn er geen cellijnen of andere modelsystemen beschikbaar die het zelfde gedrag vertonen als stellaatcellen geïsoleerd uit dieren. De processen leverfibrose in muizen lijken echter zoveel op die in mensen dat de kennis uit onderzoek aan muizen goed toepasbaar is voor leverziektes bij mensen.

Titel studie: Improve concurrent chemotherapy and radiation by local deposition of radiosensitizer

DEC nummer: 2013.III.09.066

Lokale medicijn afgifte verbetert de combinatie van radiotherapie met chemotherapie

Achtergrond: Om de schadelijke effecten van cytostatica voor gezond weefsel te verminderen worden deze vaak verpakt in liposomen (kleine vetbolletjes). Het nadeel hiervan is dat de cytostatica ook minder effectief de tumorcellen doodt. Door middel van het lokaal verhogen van de temperatuur in de tumor kunnen wij de cytostatica vrijzetten uit de liposomen en daardoor in de tumor een hoge concentratie van deze cytostatica creëren.

Sommige cytostatica hebben ook een sentiserend werking met betrekking tot radiotherapie. Wij verwachten dat onze methode de synergistische werking van radiochemotherapie kan versterken.
Doel/hypothese: In deze studie gaan wij onderzoeken of deze verhoogde concentratie van de cytostatica in combinatie met verhoogde temperatuur een positief effect heeft op de combinatie therapie van chemo- en radiotherapie.
Globale aanpak vraagstelling: Wij zullen eerst bepalen wat de optimale doses zijn voor chemotherapie en radiotherapie onafhankelijk. Vervolgens zullen we een efficiëntiestudie uitvoeren waarbij we kijken naar de onafhankelijke behandelingen en de combinatie van beide behandelingen. Al deze experimenten zullen uitgevoerd worden in muizen.

Titel studie: Identification and inhibition of chemoresistance-inducing-lipids secreted by splenic macrophages

DEC nummer: 2013.III.09.067

De rol van milt macrofagen 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 twee receptoren (BLT2 en GPR40) en als gevolg daarvan scheiden ze een viertal lipiden (vetten) uit. Als we alle vier deze lipiden aan muizen geven zorgen die voor resistentie tegen chemotherapie. In dit onderzoek willen we deze vier lipiden onafhankelijk van elkaar onderzoeken, zodat we kunnen bepalen welke de daadwerkelijke resistentie geven en of er samenwerking van meerdere lipiden nodig is. Verder onderzoek naar deze lipiden kan leiden tot de ontwikkeling van nieuwe of betere medicatie tegen kanker.
Doel/hypothese: We willen onderzoeken welke van de vier geïdentificeerde lipiden echt verantwoordelijk zijn voor de resistentie tegen chemotherapie. Tevens willen we de aanmaak van deze lipiden in de miltmacrofagen proberen te remmen zodat resistentie niet meer op kan treden.
Globale aanpak vraagstelling: Om de vier lipiden die door de miltcellen worden uitgescheiden beter te onderzoeken zijn drie experimenten opgesteld: In experiment één en twee gaan we vanuit muizen milten de vier lipiden voor het eerst apart opzuiveren en van elk van de individuele lipiden bepalen of ze alleen of in combinatie met anderen resistentie kunnen bewerkstelligen. In experiment drie willen we kijken of we de aanmaak van de vier lipiden in de miltcellen kunnen blokkeren door middel van twee remmers. 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: Investigation of the functional role of hepatic CYP17A1 in vivo by AAV-mediated overexpression and knockdown specifically in the liver

DEC nummer: 2013.III.09.068

Onderzoek naar de functie van CYP17A1 in de lever d.m.v. aanpassingen van de hoeveelheid CYP17A1 eiwit in muislevers
Achtergrond: 1 op de 200 zwangere vrouwen ontwikkeld een leveraandoening tijdens de zwangerschap, zwangerschapscholestase, welke kan leiden tot vroeggeboorte of sterfte van de foetus.
In eerdere studies hebben wij aangetoond dat CYP17A1 zeer waarschijnlijk een belangrijke rol speelt in het ontstaan van zwangerschapscholestase. De functie van CYP17A1 in de lever is onbekend.
Doel/hypothese: Door de hoeveelheid CYP17A1 in muizenlevers experimenteel te beïnvloeden, kunnen we de functie van CYP17A1 in de lever onderzoeken.
Globale aanpak vraagstelling: In deze studie verhogen en verlagen we de hoeveelheidCYP17A1 eiwit met behulp van een virus dat we inspuiten in de staart vene en dat specifiek de lever infecteert. Na drie weken worden de muizen geëuthanaseerd en wordt het effect van de expressie van dit eiwit bestudeerd.

Vergadering 23 oktober 2013

Titel studie: Mechanismen van voedselallergie: mogelijke mucosale adjuvantia

DEC nummer: 2013.III.10.069

Mechanismen van voedselallergie: mogelijke mucosale adjuvantia
Achtergrond: Voedselallergie treedt vaak op bij kinderen maar ook bij volwassenen. Middels onderzoek waarbij gebruik gemaakt wordt van celkweek van verschillende soorten cellen en van testmodellen in muizen wordt getracht mogelijkheden en methoden te vinden om risicofactoren te onderscheiden en nieuwe therapieën te ontwikkelen.
Doel/hypothese: Het muizenmodel voor voedselallergie maakt gebruik van cholera toxine als middel om de muizen allergisch te maken. Cholera toxine vermindert de natuurlijke barrière functie van de darm en heeft invloed op het afweersysteem in de darm, waardoor het een allergische reactie tegen voedingsstoffen kan ontwikkelen. De westerse bevolking wordt echter nauwelijks blootgesteld aan cholera toxine, waardoor het niet zo relevant is voor het ontstaan van voedselallergie in mensen. Humane voeding kan wel gecontamineerd zijn met andere toxines van schimmels en bacteriën. In deze studie willen we een schimmel toxine (deoxynivalenol) en een bacterieel toxine (Staphylococcus areus toxine B)

waarvan bekend is dat ze de barrière functie van de darm beïnvloeden, testen op hun capaciteit om voedselallergie in muizen te veroorzaken.
Globale aanpak vraagstelling: Muizen worden gedurende vier weken eenmaal per week behandeld met een voedsel allergeen (uit koemelk of pinda) in combinatie met één van beide toxines. Na vijf weken wordt de allergische reactie tegen het allergeen gemeten aan de hand van zwelling van de huid en de productie van antistoffen in het bloed. Het ontstaan van voedselallergie kan niet in vitro worden nagebootst omdat het een complexe immuunreactie is waarbij veel verschillende celtypen betrokken zijn en waarvan het precieze mechanisme niet bekend is.

Titel studie: Assessment of developed canine tumor specific nanobodies performance as optical imaging probes in two canine xenograft models

DEC nummer: 2013.III.10.070

Ontwikkeling van nieuwe moleculaire beeldvormingsmogelijkheden voor detectie van hondentumoren in een muizenmodel
Achtergrond: Kanker is een van de meest voorkomende ziektes van dit moment. Vroege detectie van kanker is van ultiem belang voor het succes van de therapie. Er wordt veel moeite gedaan om tumoren zichtbaar te maken. In het lab hebben we bepaalde moleculen ontwikkeld die, omdat ze klein zijn en specifiek aan de tumorcel binden, waarschijnlijk een snelle tumor visualisatie mogelijk maken na toediening via de bloedbaan. In deze studie willen we het functioneren van deze moleculen bestuderen door te bekijken of ze specifiek op de plek van de tumor terecht komen en zo ja hoe snel ze die plek bereiken. Het verder ontwikkeling van dergelijke moleculen zal niet alleen voortijdige detectie van tumoren en metastases mogelijk maken, maar ook gebruikt kunnen worden om te bestuderen hoe effectief een behandeling is en behulpzaam zijn tijdens de operatieve verwijdering van tumoren.
Doel/hypothese: We willen de werkzaamheid van nieuw ontwikkelde moleculen voor beeldvorming van tumoren bestuderen in twee verschillende tumormodellen. Hiertoe zullen we de specificiteit en de snelheid van de ophoping van deze moleculen in tumoren vergelijken met de reeds gebruikte methode. Onze hypothese is dat de nieuw ontwikkelde hondentumor-specifieke moleculen de tumor specifiek herkennen in een heel kort tijdsbestek.
Globale aanpak vraagstelling: Voorafgaand aan deze aanvraag hebben we in het laboratorium twee moleculen geselecteerd op goede eigenschappen om hondentumoren zichtbaar te maken. Om deze moleculen verder te bestuderen op hun eigenschappen om daadwerkelijk tumoren te kunnen laten zien en verdere selectie en ontwikkeling van deze moleculen mogelijk te maken zijn tumormodellen in proefdieren noodzakelijk. In het eerste deel van het experiment zullen we in twee tumormodellen bestuderen welke van de twee geselecteerde specifieke detectiemoleculen het snelste en met het meeste contrast (t.o.v. normaal weefsel) op de plek van de tumor terecht komt. Met de beste tumorcel-detectiemolecuul combinatie zal een vervolgstudie plaatsvinden waarin

we naar de verdeling van het molecuul in het lichaam zullen kijken. Voor beide experimenten zullen tumoren van hondencellen worden gegroeid in muizen, welke zichtbaar zullen worden gemaakt na injectie van de beeldvormingsmoleculen met behulp van een speciale camera. Over de tijd zal in elk dier worden gekeken hoe deze moleculen zich verspreiden door het lichaam en of ze zich specifiek ophopen op de plek van de tumor.

Titel studie: Tear production and intraocular pressure in healthy canine neonates

DEC nummer: 2013.III.10.071

De ontwikkeling van de traanproductie en oogdruk bij gezonde Beagle pups

Achtergrond: De traanaanmaak en de oogdruk zijn belangrijk voor het normaal functioneren van de oogbol. Het is daarom belangrijk om afwijkingen in de traanaanmaak of oogdruk tijdig vast te stellen en zo nodig te behandelen. Het is echter niet bekend wat normale waarden zijn voor de traanaanmaak en oogdruk bij pasgeboren honden. Bij mensen is bekend dat de traanproductie net na de geboorte nog onvolledig is ontwikkeld. Bij honden is de traanproductie in de periode kort na de geboorte niet goed beschreven. Eén studie baseerde zich op het eenmalig meten van de traanproductie bij 43 pups van 17 verschillende rassen/kruisingen en van uiteenlopende leeftijd. De uitkomst van deze studie is niet goed te gebruiken in de diergeneeskundige praktijk. Een ander artikel beschreef de traanproductie bij 30 pups van zes verschillende rassen op alleen vier weken leeftijd. De ontwikkeling van de traanproductie bij individuele pups, vanaf de geboorte tot 12 weken leeftijd, is niet eerder onderzocht. Ook de ontwikkeling van de oogdruk bij honden in de periode na de geboorte is niet gedocumenteerd. Bij 32 Labrador retrievers werd de oogdruk gemeten op zes weken en één jaar leeftijd, met behulp van een applanatietonometer (TonoPen XL), en de waarden op deze leeftijden verschilden niet in belangrijke mate van elkaar. Inmiddels is een andere oogdrukmeter (TonoVet) op de diergeneeskundige markt, die het mogelijk maakt om de oogdruk ook bij heel jonge pups te meten. De ontwikkeling van de oogdruk bij individuele pups in de eerste maanden na de geboorte is niet onderzocht.
Doel/hypothese: Het bestuderen van de normale ontwikkeling van de traanproductie en oogdruk bij gezonde pups zonder oogproblemen tussen twee en twaalf weken leeftijd.
Globale aanpak vraagstelling: De traanproductie en oogdruk kunnen alleen bij levende pups worden gemeten. Het is dus noodzakelijk om hiervoor proefdieren te gebruiken. Bij Beagle pups zullen, vanaf het moment waarop de ogen worden geopend tot twaalf weken leeftijd, wekelijks de traanproductie en de oogdruk van beide ogen worden gemeten. Voorafgaand aan de studieperiode worden de pups eenmalig oogheelkundig onderzocht. Dieren die hierbij relevante afwijkingen vertonen zullen worden uitgesloten van de studie. De traanproductie wordt gemeten met behulp van een gestandaardiseerde, steriele meetstrip (Schirmer Tear Test). Indien bij aanvang van de studie de oogleden van de pups nog te klein zijn om de - vrij brede - Schirmer Tear Test strip te kunnen inbrengen, zal een aangepaste smallere teststrip worden gebruikt. Deze teststrip wordt gedurende één

minuut in de bindvliezen van het onderooglid gehouden (Schirmer Tear Test 1; basale traanproductie plus reflextraanproductie). Hierna wordt de oogdruk gemeten met de "TonoVet". Vervolgens wordt het oogoppervlak verdoofd en de bindvliezen worden gedroogd. Hierna wordt de traanproductie nogmaals gemeten (Schirmer Tear Test 2; basale traanproductie).

Titel studie: Effect of an antiinflammatory drug on tumor development after radio frequency ablation in conditional Rb/p53 deficient mice

DEC nummer: 2013.III.10.072

Ontwikkeling van lever tumoren in muizen met gemodificeerde genen
Achtergrond: Levertumoren zijn de derde kanker gerelateerde doodsoorzaak, wereldwijd. Ze treden vaak op bij leverontstekingen, hepatitis. In eerdere studies werd aangetoond dat er een relatie lijkt te bestaan tussen de vorming van levertumoren in muizen waarbij enkele genen afwezig zijn en het veroorzaken van leverschade. Opvallend was dat in de muizen die tumoren ontwikkelen meer ontstekingscellen werden aangetroffen in het overgangsgebied tussen gezonde lever en de beschadigde lever.
Doel/hypothese: Behandeling van muizen met een ontstekingsremmer tijdens en na een operatie waarbij een deel van de lever wordt vernietigd zal de vorming van kanker verminderen of zelfs voorkomen.
Globale aanpak vraagstelling: Bij muizen wordt (onder anesthesie) mechanisch een van de leverlobben beschadigd (met necrose als gevolg). Op de plaats van necrose zal een levertumor ontstaan. Drie en tien weken na de operatie worden de muizen geëuthanaseerd om te onderzoeken welke moleculaire mechanisme ten grondslag liggen aan de tumorvorming. Bij de helft van de dieren is een ontstekingsremmer toegediend. In de analyses zal worden bepaald in welke mate deze ontstekingsremmers de vorming van tumoren heeft beïnvloed. Het model dat gebruikt wordt is eerder met succes toegepast. Voor de ontwikkeling van de tumorcellen is ook de omgeving van gezonde levercellen essentieel. Dit is in een celkweek systeem niet te bereiken. Daarnaast zal de bijdrage van de eerder waargenomen ontstekingsreactie bestudeerd worden. Hiervoor is het ook essentieel dat de interactie met de omgeving van de lever, zoals die in het lichaam bestaat, aanwezig is.

Titel studie: E2F7/8 function is required for survival and tissue homestasis in mice

DEC nummer: 2013.III.10.073

Genen die nodig zijn voor het overleven van muizen en het handhaven van weefsel eigenschappen
Achtergrond: Eerdere studies in muizen hebben aangetoond dat de E2F7/8 genen die bestudeerd zijn essentieel zijn voor de embryonale ontwikkeling. Dieren waarbij deze genen volledig uitgeschakeld zijn sterven tijdens de embryonale ontwikkeling. In een eerdere studie hebben we deze genen conditioneel uitgeschakeld door de muizen te injecteren met een chemische stof in de eerste week na geboorte.
Het uitschakelen van deze genen heeft niet tot zichtbare gebreken geleidt op vroege leeftijd, wel waren deze

muizen onvruchtbaar. Bij analyse van zes maanden oude muizen waren er afwijkingen zichtbaar in de binnenste laag van het oog, welke gevoelig is voor licht en duidelijk zien, en afwijkingen in de geslachtsorganen. Het is mogelijk dat het uitschakelen van deze genen op vroege leeftijd leiden tot veranderingen in genetische samenstelling van de cellen tijdens de eerste week van leven en interfereren met de normale ontwikkeling van sommige organen en daardoor verantwoordelijk zijn voor de onvruchtbaarheid en afwijkingen in het oog. In deze studie worden de genen uitgeschakeld in volwassen muizen met een normale ontwikkeling en worden de effecten van het uitschakelen van deze genen bestudeerd in de organen en op de vruchtbaarheid.
Doel/hypothese: Analyse van het effect van uitschakelen van de genen bij volwassen dieren. Hypothese: we verwachten geen effect op de vruchtbaarheid van de muizen.
Globale aanpak vraagstelling: Start met 10 controle muizen en 10 muizen met uitschakelbare genen. De muizen krijgen injecties met een chemische stof waardoor in de tweede groep de twee genen uitgeschakeld worden. Na zes weken worden de dieren in fok gezet met bewezen vruchtbare wildtype muizen. Als er pups zijn worden deze geteld op de dag van geboorte en op moment van spenen. Bij het spenen worden de pups gewogen en vervolgens geëuthanaseerd en histologisch geanalyseerd. Twintig weken na aanvang van de studie worden vijf muizen per groep geëuthanaseerd en geanalyseerd de overgebleven vijf dieren per groep worden in de tijd gevolgd om eventuele tumorvorming te bestuderen. De dieren zullen wekelijks - en indien nodig frequenter - bekeken en gewogen worden. Voor dit onderzoek is gebruik van proefdieren noodzakelijk; computer modellen bestaan niet en bij gebruik van celkweeksystemen missen de interacties tussen allerlei lichaamscomponenten die essentieel zijn voor de te bestuderen genen. Celkweeksystemen kunnen geen uitsluitsel geven over de vruchtbaarheid van muizen.

Vergadering 20 november 2013

Titel studie: Extracorporale schokgolven voor het optimaliseren van fractuur fixatie

DEC nummer: 2013.III.11.074

Extracorporale schokgolven voor het optimaliseren van fractuur fixatie
Achtergrond: Bij het plaatsen van schroeven en platen op het bot, bijvoorbeeld in verband met een breuk, is er altijd een mogelijkheid dat deze materialen uitbreken. Enerzijds wordt geprobeerd dit te voorkomen door mensen lang te behandelen met gips, wat een beperking in de kwaliteit van leven oplevert. Anderzijds zijn er technische ontwikkelingen geweest om de materialen beter te fixeren, bijvoorbeeld door zogenaamde hoekstabiele schroeven te gebruiken. Ook is er gekeken naar het gebruik van medicatie die botaanmaak systemisch stimuleren, maar preklinische studies zijn hierover nog niet conclusief. Echter, er blijft nog steeds een kans op falen van de materialen bestaan. Een nieuwe manier om dit falen te voorkomen, is de botmassa lokaal te stimuleren en daarmee de fixatie te optimaliseren. Wij denken dit met een eenmalige behandeling met schokgolftherapie te bewerkstelligen. Schokgolftherapie zijn geluidsgolven die door water naar het behandelde lichaamsdeel worden geleid. Schokgolftherapie heeft aangetoond dat het meerdere factoren, die te maken hebben met botgroei, stimuleert. Het wordt al veilig toegepast bij patiënten, onder andere om bot aan te maken indien een botbreuk niet wil helen. Het is echter nog niet aangetoond dat het rond operatiematerialen, zoals schroeven, tot verbetering van de fixatie leidt.
Doel/hypothese: Ontwikkelen van een verbeterde schroeffixatie voor het fixeren van breuken door gebruik te maken van schokgolftherapie.
Globale aanpak vraagstelling: De eerste dag worden in beide achterpoten van de ratten schroeven geplaatst in het bot. De linker of rechter achterpoot van elk dier wordt tijdens dezelfde narcose behandeld met schokgolftherapie, waardoor de andere kant als controle gebruikt kan worden. Ter controle van het botvolume op de eerste dag krijgen alle dieren een micro-CT scan. Drie weken na de operatie/behandeling worden de dieren gedood en wordt gekeken of er meer bot gevormd is (micro-CT scan) en of het moeilijker is om de schroeven, die behandeld zijn met schokgolftherapie, uit het bot te trekken. De biologie van botgroei is op geen enkele wijze na te bootsen, waardoor er geen goed alternatief is ter vervanging van deze dierproef.

Titel studie: BMP-2 non-virale gen therapie in een rattenmodel

DEC nummer: 2013.III.11.075

BMP-2 non-virale gen therapie in een rattenmodel
Achtergrond: Door een ongeluk of de groei van een tumor kan er een defect in botweefsel ontstaan. Een bottransplantatie met bot uit de bekkenkam van de patiënt zelf is momenteel de gouden standaard behandeling voor bot defecten. Echter is er een tekort aan transplanteerbaar bot. Derhalve is er een grote klinische vraag

naar nieuwe therapeutische opties om botgroei lokaal te stimuleren. Huidige producten die botgroei stimuleren met groeifactoren geven goed resultaat. Zo wordt een bekend product in het veld van de bot regeneratie: Bone Morphogenic Protein 2 (BMP-2) reeds klinisch toegepast. Echter heeft het gebruik van BMP-2 eiwit veel bijwerkingen door hoge dosering die nodig zijn vanwege snelle afbraak in het lichaam. Middels gentherapie is een constante afgifte van groeifactor (eiwit) te bewerkstelligen. In eerder onderzoek is aangetoond dat gentherapie met DNA coderend voor BMP-2 een vergelijkbaar resultaat geeft met hoge doseringen BMP-2 eiwit. Hierbij waren stamcellen en keramische partikels gemengd met eiwit of DNA gebruikt. Voor een klinische toepassing van de gentherapie zijn een aantal belangrijke vraagstukken nog onbeantwoord gebleven. We willen de noodzaak van het zaaien van cellen onderzoeken of het gebruik van andere cel bronnen dan stamcellen (MSCs).
Doel/hypothese: 1) Onderzoeken of lichaamseigen cellen het gen kunnen aflezen en het eiwit kunnen maken. 2) Onderzoeken of de lichaamseigen cellen dan ook bot kunnen vormen ter plaatse van het implantaat.
Globale aanpak vraagstelling: Deze studie is in twee sub studies uitgesplitst: In deel één gebruiken we een 'marker gen', GFP, dit kleurt cellen groen die het gen hebben afgelezen en het eiwit produceren. Derhalve is het gemakkelijk achteraf de positieve cellen terug te vinden en de efficiëntie te kwantificeren. In de vorm van mRNA (een tijdelijke vorm van DNA die vanaf de celkern naar het deel van de cel gaat waar het eiwit wordt gevormd) en eiwit is GFP goed traceerbaar in weefsel. Door naar de hoeveelheid eiwit en RNA te kijken kunnen we inschatten hoeveel van het DNA in de cel terecht komt. Dit maakt het mogelijk de efficiëntie te bepalen. Uit eerder onderzoek weten we de optimale concentratie van gezaaide cellen en DNA, echter is dit nog niet duidelijk voor cel vrije constructen. Voor een mogelijke klinische toepassing van DNA voor bot regeneratie is het zeer belangrijk om uit te zoeken of gezaaide cellen nodig zijn, hetgeen het gebruik van celkweek faciliteiten voor deze toepassing overbodig maakt. Het doel van deel één is derhalve uitzoeken of het systeem gebruikt kan worden om lichaamseigen cellen met het DNA te behandelen. Daarnaast worden nog enkele groepen mee genomen waarin we de optimale dosis DNA testen (deze toename van groepen leidt niet tot een toename in het aantal benodigde ratten). Na twee weken worden de dieren geëuthanaseerd en de implantaten geanalyseerd. Dit is het tijdstip waarop we het grootste aantal positieve cellen verwachten. In het tweede deel van de studie wordt in plaats van het GFP gen, het BMP-2 gen gebruikt. Dit om te onderzoeken of de lichaamseigen cellen dan ook bot kunnen vormen ter plaatse van het implantaat. Botvorming na acht weken is de uitkomstmaat, daarnaast worden op verschillende tijdstippen fluorochromen (een kleurstof die later in weefselcoupes kan worden teruggevonden) ingespoten om het tijdstip van mineralisatie van bot te bepalen. Het gebruik van proefdieren is noodzakelijk: In vitro, in het laboratorium, is deze gentherapie uitgebreid onderzocht en geoptimaliseerd. De vraag die nu overblijft: is of lichaamseigen cellen het DNA kunnen opnemen en kunnen maken in vivo (in het lichaam). Dit kan alleen in een dierenmodel getest worden.

Titel studie: Effecten van maternale dieetsupplementatie met prebiotica op de samenstelling van moedermelk

DEC nummer: 2013.III.11.077

Effecten van de prebiotica op de samenstelling van moedermelk bij muizen

Achtergrond: Omdat we in een vorig experiment hebben gezien dat wanneer muizen die moedermelk gaven op een dieet stonden waar prebiotica aan waren toegevoegd, er een vermindering van de verschijnselen van allergische astma optrad in hun nakomelingen, willen we nu graag gaan kijken naar de verschillen in de samenstelling van de moedermelk. Daarbij willen we mogelijke verschillen in de aanwezigheid van galectine 9 bestuderen. Dit is een eiwit waarvan bekend is dat (a) het effecten heeft op de ontwikkeling van allergische responsen, (b) er meer van aanwezig is als er prebiotica wordt gegeven en (c) dat het wordt uitgescheiden in de moedermelk. Ook zou het kunnen zijn dat er door het geven van prebiotica een verschil is in de aanwezigheid van kortketenige vetzuren (SCFA) in de darm van de moederdieren. Dit kunnen we meten door feces (ontlasting) te verzamelen. Deze SCFA worden gemaakt door bacteriën in de darm en hebben een positief effect op onder andere de barrièrefunctie van het darmepitheel. SCFA kunnen echter ook de ontwikkeling van het immuunsysteem beïnvloeden. Omdat SCFA ook beschikbaar worden in de moedermelk, zou het kunnen zijn dat prebiotica middels de darmflora van de moederdieren hoeveelheden beschikbaar SCFA veranderen. Omdat we nog niet weten op welke wijze de moedermelk ertoe bijdraagt dat er een verminderde allergische reactie optreedt in de nakomelingen, willen we ook immuunweefsels isoleren uit een deel van de nakomelingen, om te bekijken of deze verschillen correleren met de eventuele verschillen in de moedermelk. Met de andere nakomelingen willen we een tweetal experimenten uitvoeren waarin we (A) de cellulaire immuunrespons (betrokken bij de afweer tegen infecties) en (B) de allergische respons in een voedselallergie-studie bestuderen.

Doel/hypothese: We willen gaan meten of de hoeveelheden galectine 9 in de moedermelk verandert als moederdieren prebiotica krijgen. Verder willen we SCFA gaan meten in zowel de feces als de moedermelk. Tenslotte willen we in verschillende immuunweefsels in de nakomelingen gaan kijken of deze samenhangen met de eventuele verschillen die we in de moedermelk en/of feces kunnen meten. Tenslotte verwachten we dat er in de nakomelingen van moedermuizen op een prebiotica-dieet een verhoogde cellulaire immuunrespons te meten zal zijn (experiment A) en een verlaagde voedsel allergische respons (experiment B).

Globale aanpak vraagstelling: Er wordt eerst een fok ingezet. Wanneer de vrouwtjes worden verplaatst naar een eigen kooi, worden ze eerst even apart gezet zodat we een feces monster kunnen verzamelen. Als blijkt dat de dieren zwanger zijn worden ze random verdeeld over de controle- of de prebiotica-groep. Wanneer de muizen zijn bevallen worden ze direct overgezet op het prebiotica-dieet. Op de 12de dag na de bevalling wordt met een aangepaste kolf melk afgenomen, en zal er waar mogelijk ook weer feces worden verzameld. Wanneer de nakomelingen 21 dagen zijn worden de

moederdieren en een deel van de nakomelingen gedood zodat er melkklierweefsel, darminhoud, en verschillende immuunweefsels kunnen worden verzameld. De overige nakomelingen worden verdeeld over een tweetal experimenten (A) een vaccinatiestudie en (B) een voedselallergie-studie. In experiment (A) worden de muizen op een leeftijd van zes en acht weken gevaccineerd met een griepvaccin. Na twee weken wordt er een kleine hoeveelheid van dit vaccin in het oor gespoten om de oorzwelling na 24 uur te meten, wat een maat is voor de cellulaire immuunrespons. Hierna worden de dieren gedood waarna er verschillende organen/weefsels worden geïsoleerd om verdere analyses op uit te voeren. In experiment (B) worden de muizen vanaf een leeftijd van vier weken wekelijks gesensibiliseerd tegen ovalbumine, om zo een voedselallergie op te wekken. Aan het eind van het experiment (een week na de laatste sensibilisatie) zal er wederom gekeken worden naar de acute allergische huidreactie, en naar de mate van voedselallergische reactie.

Titel studie: Communicatie tussen hepatische stellaatcellen en hepatocyten door exosomen en eicosanoiden in wild-type en caveoline-1 knock out muizen

DEC nummer: 2013.III.11.078

Hoe zorgt een levercel ervoor dat de cellen die littekens veroorzaken actief worden op het juiste moment? Mogelijke rol van membraanblaasjes (exosomen) en vetachtige boodschappers (eicosanoiden) en de vettransporter caveoline-1

Achtergrond: Leverbeschadiging kan leiden tot littekenvorming (fibrose) door het activeren van een speciaal soort cellen in de lever de zgn. stellaatcellen. In een gezonde lever zijn deze stellaatcellen betrokken bij de opslag van vitamine A en hebben daarvoor grote vetdruppels. Als er beschadiging van de lever is, worden de stellaatcellen actief en gaan stoffen maken die littekens veroorzaken (matrix factoren). Door er achter te komen welk stoffen uit de levercel er voor zorgen dat de stellaatcellen actief worden of juist niet, wordt het mogelijk om gerichter geneesmiddelen te ontwikkelen die leverfibrose remmen. Uit recent (eigen) onderzoek zijn we op nieuwe stoffen gestuit die mogelijk een rol spelen bij het actief en/of rustig worden van de stellaatcellen. Deze stoffen, exosomen en eicosanoïden genoemd en een eiwit betrokken bij de synthese dan wel opname van deze stoffen, willen we in dit project beter onderzoeken. Doel/hypothese: Onderzoeken of i) membraanblaasjes (exosomen) of andere stoffen die worden uitgescheiden door levercellen verkregen uit normale muizen of muizen die het eiwit caveoline-1 missen, de activering

van cellen uit de muizenlever die littekens veroorzaken (hepatische stellaatcellen) kunnen beïnvloeden. En ii) of muizen hepatische stellaatcellen ook zelf vetachtige stoffen (eicosanoïden) uitscheiden, waardoor ze nog actiever worden.
Globale aanpak vraagstelling: Op dit moment zijn er geen cellijnen of andere modelsystemen beschikbaar die het zelfde gedrag vertonen als stellaatcellen geïsoleerd uit dieren. De processen leverfibrose in muizen lijken echter zoveel op die in mensen dat de kennis uit onderzoek aan muizen goed toepasbaar is voor leverziektes bij mensen.

Titel studie: Evaluation of macrophage and/or stellate cell targeted drugs for the treatment of liver diseases

DEC nummer: 2013.III.11.079

Evaluatie van nieuwe geneesmiddelen gericht tegen hepatische stellaatcellen en macrofagen in leverfibrose muismodellen
Achtergrond: Lever fibrose wordt voornamelijk veroorzaakt door virale hepatitis, alcohol consumptie, vetzucht en genetische factoren. Tot op heden zijn er nog geen effectieve geneesmiddelen beschikbaar voor lever fibrose. Een orgaantransplantatie is vaak de enige mogelijkheid maar dit is geen ideale optie en zeker niet haalbaar voor alle patiënten. Een van de redenen voor het ontbreken van effectieve geneesmiddelen is dat het zeer moeilijk is de doelcellen in de lever te bereiken. Macrofagen en geactiveerde hepatische stellaatcellen (HSC's) zijn de belangrijkste in het ziektebeeld en voortgang van leverfibrose. Specifieke individuele of combinatie therapie gericht op deze celen zou daarom een veelbelovende aanpak voor de behandeling van leverfibrose zijn.
Therapie gericht op hepatische stellaatcellen: Hepatische stellaatcellen zijn de belangrijkste producenten van het littekenweefsel. Deze cellen nemen sterk toe in aantal en raken geactiveerd en gaan vanaf dat moment littekenweefsel (o.a. Collagenen) aanmaken. Om fibrose te remmen moet de groei of activiteit van deze cellen afgeremd worden. Cel-specifieke geneesmiddelafgifte in hepatische stellaatcellen is dus erg belangrijk voor een effectief antifibrotisch geneesmiddel. Therapie gericht op macrofagen: Macrofagen worden dichtbij de collageen producerende hepatische stellaatcellen gevonden en zijn onbetwistbaar belangrijke cellen in de voortgang van fibrose. Ze produceren profibrotische mediatoren en chemokines die direct fibroblasten en ontstekingscellen aantrekken. Tijdens toegenomen aantrekking veroorzaakt door leverschade, ondergaan inflammatoire monocyten differentiatie naar twee brede, maar verschillende subsets van macrofagen die gekarakteriseerd kunnen worden als klassiek geactiveerde (M1) of alternatief geactiveerde (M2) macrofagen. De ontstekingsreactie wordt voornamelijk gemedieerd door M1-gepolariseerde macrofagen. De resolutiefase wordt gedreven door M2-gepolariseerde macrofagen. Daarom zal gerichte modulatie van macrofaagfunctie een veelbelovende toekomstige aanpak zijn om het fibrotische proces te beïnvloeden.
Doel/hypothese: In dit project zullen we: 1) de effecten van HSC-gerichte aanpakken in leverfibrose muismodellen onderzoeken. 2) De effecten van macrofaaggerichte

aanpakken in leverfibrose muismodellen evalueren. 3) De combinatie van HSC- en macrofaaggerichte aanpakken voor effectieve behandeling onderzoeken.
Globale aanpak vraagstelling: Dit onderzoeksproject zal als volgt worden uitgevoerd: Leverfibrose muismodellen zullen worden gebruikt om de effecten van verschillende geneesmiddelen voor de behandeling van leverfibrose te onderzoeken. De muizen zullen worden geïnjecteerd met hepatotoxische stoffen (koolstoftetrachloride, thioacteamide of alcohol) om leverschade teweeg te brengen. De dieren zullen worden behandeld met verschillende geneesmiddelen (gericht op HSC's, macrofagen of beide) om de effecten op leverfibrose te onderzoeken. Het lichaamsgewicht, gedrag en toestand van de vacht zullen worden gecheckt tijdens de gehele duur van de studie. Aan het eind zullen de dieren worden gedood en zullen bloed en organen verzameld worden voor verder onderzoek. We zullen beginnen met het onderzoeken van de verschillende medicijnen in een in vitro celkweek en de effectieve middelen selecteren. Vervolgens worden deze middelen getest voor effectiviteit in een acuut kortdurend leverschademodel in muizen. De effectieve middelen zullen daarna worden gebruikt om gerichte nanodeeltjes (gericht tegen HSC's, macrofagen of beide) te maken. Biodistributie- en effectstudies zullen daarna worden uitgevoerd in het kortdurende muismodel en effectieve nanodeeltjes zullen vervolgens worden gebruikt in het chronische leverfibrose muismodel. Leverfibrose is een chronische ziekte die tot leverschade en uiteindelijk de dood leidt.
Door de afwezigheid van klinisch bewezen antifibrotische geneesmiddelen is er een dringende behoefte om effectieve therapieën voor de behandeling van leverziektes te vinden. Door middel van deze dierexperimenten zullen we deze nieuwe cel-specifieke antifibrotische geneesmiddelen testen, om zodoende een oplossing vinden voor deze dodelijke ziekte. Om deze nieuw ontwikkelde behandelingen te testen bij de behandeling van leverfibrose, is het niet mogelijk om een andere methode dan een diermodel te gebruiken. Voor de ontwikkeling van behandelingen, moeten we de effectiviteit van de ontwikkelde constructen onderzoeken in verschillende diermodellen. Deze onderzoeken zullen uitgevoerd worden na uitgebreid onderzoek van de constructen in in vitro systemen.

Titel studie: Unraveling the mechanisms underlying resistance to anti-cancer therapy as induced by fatty acids

DEC nummer: 2013.III.11.080

Het ontrafelen van de mechanismen die ten grondslag liggen aan vetzuur-gemedieerde chemotherapieresistentie in muizen

Achtergrond: Chemotherapeutische stoffen zoals cisplatin zijn op dit moment de meest effectieve behandelingsoptie voor veel vormen van kanker. Echter, de effectiviteit van chemotherapie wordt beperkt door de ontwikkeling van drugresistentie. De mechanismen die ten grondslag liggen aan chemotherapieresistentie zijn uitgebreid bestudeerd in celkweken, echter het blijkt dat resistentie in celkweken op een andere manier optreedt dan in tumoren, waardoor onderzoek in dieren noodzakelijk is. Het laatste decennium is verder gebleken dat het micro-

milieu van de tumor een rol speelt bij de ontwikkeling van resistentie, en ook het lichaam een beschermingsrespons heeft tegen chemotherapie. Deze processen kunnen alleen maar onderzocht worden in dieren. Onze groep heeft bij eerder onderzoek in muizen gezien dat circulerende mesenchymale stamcellen tumorresistentie actief kunnen bevorderen, door de productie van twee vetzuren: HHT en 16:4 (ookwel Platinum-induced fatty acids, PIFAs, genoemd). Deze vetzuren binden waarschijnlijk aan macrofagen in de milt, waar ze zorgen voor de productie van een onbekende factor welke resistentie in de tumor opwekt. In dit onderzoek in muizen worden de processen die binnen de tumor zorgen voor resistentie onderzocht.
Doel/hypothese: Het doel van deze studie is inzicht te verkrijgen in de mechanismen die aangezet worden door PIFA's en die leiden tot cisplatin resistentie in tumoren bij muizen. Inzicht in hoe de productie van vetzuren bijdraagt aan chemotherapieresistentie kan leiden tot de ontwikkeling van nieuwe behandelingsmethoden om resistentie te omzeilen.
Globale aanpak vraagstelling: Om inzicht te verkrijgen in het mechanisme wat ten grondslag ligt aan PIFA-geïnduceerde resistentie in muizentumorcellen, willen we de volgende experimenten doen: In het eerste experiment willen we de processen die aangeschakeld worden in muizentumoren na behandeling met PIFA's of medium van miltcellen die behandeld zijn met PIFA's in kaart brengen. In het tweede experiment willen we kijken hoe DNA reparatie bijdraagt aan chemoresistentie in muizentumoren. Dit willen we doen door gebruik te maken van remmers tegen belangrijke DNA reparatie-eiwitten en eiwitten die betrokken zijn bij vetzuursignalering. In het derde experiment willen we muizenmilten isoleren om een alternatief te ontwikkelen voor de muismodellen. De miltcellen zullen gebruikt worden om de productie van de onbekende factor te stimuleren, welke gegeven zal worden aan tumorcellen in kweekschaaltjes waarna de gevoeligheid voor chemotherapie wordt bepaald. In het vierde deel willen we het effect van verschillende vetzuren op tumorcelprocessen in muizen bepalen, om inzicht te verkrijgen in PIFA-specifieke effecten.

Titel studie: Gedevitaliseerde chondrogeen gedifferentieerde stamcellen voor de behandeling van non-unions ten gevolge van insufficiënte botgenezing

DEC nummer: 2013.III.11.081

Avitale kraakbeenconstructen voor de behandeling van non-unions ten gevolge van insufficiënte botgenezing
Achtergrond: Normaal gesproken zal na een botbreuk het bot zonder problemen genezen, maar een aantal breuken laat na lange tijd nog steeds geen genezingstendens zien. Bij sommige breuken komt dit vaker voor dan bij andere, zo treedt na een breuk van het scheenbeen zelfs in 8% van de gevallen een dergelijke gestoorde genezing op. Een niet-helende breuk, ook wel 'non-union' genoemd, gaat gepaard met een aanzienlijke morbiditeit aangezien de patiënt veel pijn ervaart en het been doorgaans niet kan belasten. Er zijn vaak ingewikkelde operaties nodig om alsnog een consolidatie van de fractuur te krijgen. Echter blijft na meerdere van deze behandelingen bij een substantieel van de patiënten nog steeds

een non-union bestaan. Uiteindelijk zal, als na meerdere ingrepen geen consolidatie is bereikt, alleen een amputatie tot verbetering van de klachten leiden, wat uiteraard invaliderend zal zijn. Om een hogere consolidatiegraad te bereiken en de voorspelbaarheid van een behandeling te vergroten zijn we opzoek naar betere therapieën. Één van de mogelijkheden is een behandeling waarbij stamcellen van de patiënt die na een voorbehandeling van een aantal weken in het laboratorium worden terug gezet op de plek van de non-union om daar alsnog een helingsproces te induceren. Het is gebleken dat deze cellen in het laboratorium in een dusdanige conditie worden gebracht dat ze botvorming stimuleren in een botmodel bij ratten. We hopen in het huidige onderzoek de behandeling eenvoudiger te maken door te testen of de methode ook werkt met avitale cellen en of de botvorming wordt beïnvloed door het afweersysteem. Indien beide positief, dan zou dit de weg openen voor translatie naar de mens.
Doel/hypothese: Ontwikkelen van een nieuwe behandelmethode voor de behandeling van niet helende botbreuken door gebruik te maken van kraakbeenconstructen verkregen uit stamcellen.
Globale aanpak vraagstelling: Er wordt gebruikt gemaakt van een model waarbij een defect in het bovenbeen gemaakt wordt; bovenbeen defect model. Van dit model is bekend dat het gemaakte botdefect niet wordt overbrugd door aanmaak van nieuw bot, indien het leeg gelaten wordt en dus resulteert in de vorming van een non-union. Een non-union is een pathologische fractuurgenezing welke wij willen behandelen met avitale kraakbeenconstructen. Voor het creëren van de non-union nemen we een 6-mm groot bot segment uit het bovenbeen van ratten. Het femur wordt gefixeerd met een plaat en schroefjes en vervolgens plaatsen we onze avitale kraakbeenconstructen (of vitale constructen als positieve controle/ of geen constructen als negatieve controle) op de plaats van het defect. Deze avitale constructen zouden een gezond genezingsproces op gang moeten brengen, het hoofddoel van ons onderzoek. Er zijn verschillende groepen. Vier groepen worden na één dag gedood, vier groepen na drie dagen en de andere groepen na 12 weken. De vascularistatie wordt met een polymeer in kaart gebracht door de bovenbenen te scannen met een mirco-CT scan, waardoor we ook de botformatie kunnen beoordelen. Tevens wordt er histologie gedaan.

Titel studie: Injecteerbare pleister, pilot studie in paarden

DEC nummer: 2013.III.11.082

Injecteerbare pleisters voor kraakbeenherstel
Achtergrond: Slijtage aan het kraakbeen van een gewricht wordt artrose genoemd. Van alle gewrichtsaandoeningen is artrose is de meest voorkomende en wordt gekarakteriseerd door schade aan en verlies van kraakbeen. In Nederland lijden ongeveer 1,1 miljoen mensen aan artrose wat een behoorlijke impact heeft op de kwaliteit van hun leven. Patiënten hebben pijn en kunnen daardoor minder goed functioneren in het dagelijks leven. De impact van artrose is nog veel groter als dit al op jonge leeftijd begint, meestal veroorzaakt door een sportblessure of een groeistoornis. Helaas zijn de opties om deze patiënten te behandelen beperkt en verre

van optimaal. In de paardengeneeskunde is artrose en vergelijkbaar probleem als bij mensen. Ook bij paarden kan artrose nog niet goed behandeld worden. De beperkingen in beweging die artrose oplegt en de daardoor verminderede bruikbaarheid van het paard vormt een van de belangrijkste redenen om een paard vroegtijdig te laten inslapen. Er is nu een injecteerbare pleister ontwikkeld die kan worden ingespoten in een knie waarin artrose is ontstaan. Deze pleister moet er voor zorgen dat de artrose zich niet verder ontwikkelt en op den duur minder wordt. Deze pleister kan zowel in de humane als in de diergeneeskunde een toepassing vinden.
Doel/hypothese: Om de veiligheid van de implantaten te bestuderen zal een pilotstudie bij paarden worden uitgevoerd. Daarbij worden in paardenknieën defecten gemaakt die opgevuld zullen worden met de injecteerbare pleister.
Globale aanpak vraagstelling: Deze studie is een pilotstudie, waarin wij bij een paar dieren gaan kijken of de operatietechniek optimaal is en wat de reactie in de knie van het paard is op de injecteerbare pleister. Omdat er grote overeenkomsten zijn tussen het kraakbeen in de knie van een paard en dat van de mens, is het paard het meest relevante dier om de pleisters in te testen. Daarnaast is ook het paard een toekomstige doelgroep voor het gebruik van de pleisters omdat ook veel paarden artrose ontwikkelen.

Titel studie: Using IDAC hydrogel as carrier for applying antibacterial and antibiofilm agents locally on implants to prevent a local infection after contamination

DEC nummer: 2013.III.11.083

Het voorkomen van infectie door gebruik van een gel als drager van antibacteriële of antiobiofilm middelen 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 1-4% van de gevallen treedt hierbij een infectie op. Aangezien er jaarlijks wereldwijd enorme aantallen protheses geplaatst worden, zijn er ook nog forse infectieaantallen. Daarnaast brengt een geïnfecteerde prothese hoge morbiditeit en hoge 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 verbetert. 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: Doel: Onderzoeken of IDAC hydrogel gebruikt kan worden als drager voor verschillende antimicrobiële of antibiofilm agentia om lokale infecties te voorkomen aan implantaten.
Hypothese: door het lokaal aanbrengen van medicaties die een antimicrobiële of antibiofilm werking hebben zal een lokale infectie voorkomen kunnen worden.
Globale aanpak vraagstelling: In een konijnenmodel zal onderzocht worden hoe via een nieuwe coating het ontstaan van infecties bij orthopedische protheses bestreden kunnen worden. 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. We gebruiken een konijnenmodel aangezien de effectiviteit van deze gel nog niet bewezen is en zodoende nog niet in mensen getest kan worden. Dit model is al eerder succesvol gebruikt door onze onderzoeksgroep en ook door andere onderzoeksgroepen.

Titel studie: Advanced techniques in Doppler echocardiography, including transmitral valve flow, isovolumetric relaxation, left auricular flow and pulmonary venous flow

DEC nummer: 2013.III.11.084

Het trainen van dierenartsen in Doppler echocardiografie
Achtergrond, leerdoel, doelgroep: Veterinaire echocardiografie wordt gebruikt voor het echografische onderzoek van het hart. Hiermee kan de functie en structuur van het hart worden geëvalueerd. Dierenartsen doen dit onderzoek ook in de praktijk en er zijn een aantal dierenartsen die meer ervaring en kennis willen opdoen over de Doppler techniek; een onderdeel van een echocardiografisch onderzoek.
Doel/hypothese: De borstholte van honden en katten worden geschoren net achter de ellenboog en dan wordt een echocardiografisch onderzoek van het hart uitgevoerd onder begeleiding van een echocardiograaf.
Opzet van het onderwijselement: De dieren moeten ca. 20-30 minuten per onderzoek op hun zij liggen en worden vastgehouden. De collega's die de dieren vasthouden zullen de dieren geruststellen, met hen praten en aaien. Het scheren en echocardiografisch onderzoek is niet pijnlijk.

Vergadering 11 december 2013

Titel studie: Het effect van een vetrijk dieet op de ontwikkeling en progressie van artrose bij lokale kraakbeenschade

DEC nummer: 2013.III.12.086

Een studie naar het effect van een vetrijk dieet op artrose bij plaatselijke schade van het gewrichtskraakbeen in de knie

Achtergrond: Er zijn steeds meer aanwijzingen dat ontsteking in het lichaam en het gewricht een belangrijke rol speelt bij het ontstaan en in stand houden van artrose. Door het aanbieden van een vetrijk dieet, zal door toename van de hoeveelheid vet de ontsteking in het lichaam toenemen. Van overgewicht is bekend dat hierdoor de kans op artrose toeneemt, er werd lang gedacht dat dit kwam door de toegenomen belasting op het gewricht. Ook van lokale schade aan het kraakbeen, bij een verder stabiele knie is bekend dat dit voor een milde vorm van artrose kan zorgen. Of een combinatie van deze factoren het proces van artrose verder versneld is tot op heden onbekend.

Doel/hypothese: In dit experiment willen we in vivo kijken of een vetrijk dieet van invloed is op het ontstaan van artrose en of dit dieet de ontwikkeling van artrose versneld bij plaatselijke kraakbeenschade.

Globale aanpak vraagstelling: In eerste instantie willen we kijken of we in een rat ook daadwerkelijk zien dat het induceren van overgewicht en de daarbij behorende kenmerken van het metabool syndroom van invloed is op het ontstaan van artrose. Om dit te kunnen onderzoeken wordt er gestart met een vetrijk dieet bij de helft van de ratten voor een periode van 24 weken vergeleken met ratten die geen verandering van het dieet krijgen. Daarnaast willen we weten wat het effect is van het vetrijke dieet bij lokale kraakbeenschade in de knie op de ontwikkeling van artrose. 12 Weken na de start van het dieet worden de ratten geopereerd aan de rechter knie, en zullen we door het plaatsen van een kras het kraakbeen ter plaatse beschadigen zonder het subchondrale bot te beschadigen. De andere knie zal geen operatie ondergaan en zal dienen als controle knie. Deze in vivo dierproeven zijn noodzakelijk omdat laboratoriumonderzoeken geen volledig beeld van de situatie in een gewricht kunnen geven en onderzoek in artrose patiënten zelf is vooralsnog te belastend.

Titel studie: Correlatie tussen UCCR en cortisol uit haar bij fretten

DEC nummer: 2013.III.12.087

Correlatie tussen UCCR en cortisol uit haar bij fretten

Achtergrond: Bepaling van cortisol (stresshormoon) uit haar is een veelbelovende non-invasieve methode om het welzijn van dieren te monitoren. Deze methode is onder andere gebruikt om de cortisolproductie bij mensen (Raul et al 2004), rhesus makaken (Davenport et al 2006), honden en katten (Accorsi et al 2008) te bepalen. Deze techniek heeft verscheidene voordelen boven de al beschikbare methodes om dit hormoon te meten in dieren. Alvorens deze techniek ook bij fretten toegepast

kan worden, zullen de cortisolwaardes gemeten in haar vergeleken moeten worden met een methode waar al geruime tijd betrouwbaar cortisolwaardes mee worden gemeten. Hiervoor worden cortisolwaardes uit urine (Urine Cortisol:Creatinine Ratio (UCCR)) gebruikt.
Doel/hypothese: Verwacht wordt dat er een correlatie bestaat tussen de UCCR en cortisolwaarde uit haar en dat de bepaling van cortisol uit haar een betrouwbare weergave geeft van de cortisolproductie over langere tijd.
Globale aanpak vraagstelling: Voor de studie start, wordt bij één fret wat haar afgeschoren om de bepaling van cortisol uit haar te testen. Tijdens de studie wordt bij zes fretten driemaal een klein stukje haar kortgeschoren op de rug en hun urine wordt dagelijks opgevangen. Uit deze monsters worden de cortisolwaardes bepaald en de correlatie tussen deze twee waardes wordt bekeken. De monsters kunnen alleen van de dieren afgenomen worden waarvoor de bepaling gevalideerd moet worden, een proefdiervrij alternatief is dus niet mogelijk.

Titel studie: Non-invasive diagnostic methods for lameness for weaned piglets and sows

DEC nummer: 2013.III.12.088

Niet belastende diagnostische methode om kreupelheid op te sporen bij gespeende biggen en zeugen
Achtergrond: Kreupelheid is een groot probleem op varkensbedrijven. Van de biggen die niet meer bij hun moeder zogen is bijna 20% kreupel. Kreupele biggen brengen extra kosten mee door een vervroegde afvoer, medicijnkosten, ze groeien minder terwijl ze meer voer nodig hebben, en Hebbe een laag slachtgewicht. Kreupele zeugen worden gemiddeld genomen jonger geruimd dan zeugen die om een andere reden worden geruimd. De economische schade is hoog. Kreupelheid is een indicator voor slecht dierwelzijn. Hun welzijn is aangetast omdat ze pijn hebben, omdat ze moeilijker bij de voerbak kunnen komen en omdat ze eerder omver gelopen worden door hokgenoten. Ze lopen ook meer kans om huidwonden en urineweginfecties te ontwikkelen.
Doel/hypothese: Het doel is om kreupele dieren op te sporen met behulp van een accelerometer vastgemaakt aan de poot van een varken. Een accelerometer kan beweging detecteren en hier data over verzamelen. Omdat bewegen pijnlijk of lastig is voor een kreupel dier, zal het mogelijk minder actief zijn. Met behulp van een accelerometer moet deze vermindering van activiteit zijn op te sporen. De nadruk zal liggen op het ontwikkelen van het gebruik van accelerometers als een diervriendelijke gemakkelijke methode om kreupelheid te diagnosticeren voor onderzoek, met later ook een mogelijke toepassing op het varkensbedrijf. Als met accelerometers kreupele dieren zijn op te sporen, kan hier onderzoek mee gedaan worden. Interventies, zoals pijnstilling, kunnen onderzocht worden. Met de accelerometer wordt gekeken of de activiteit van een kreupel big toeneemt na toediening van pijnstilling.
Globale aanpak vraagstelling: Voor dit onderzoek worden de biggen die niet meer bij hun moeder zogen en de zwangere zeugen gebruikt. Stap 1 betreft het testen van het praktisch gebruik van de accelerometer bij varkens: 1) Blijven de accelerometers op de juiste plek zitten op het varken 24 uur na het bevestigen? Hiervoor worden

vijf niet kreupele dieren gebruikt. 2) Beïnvloedt de accelerometer het gedrag van de biggen? Het gedrag van de biggen voor, direct na en 24 uur nadat zij de accelerometer hebben ontvangen wordt vergeleken. Hiervoor worden dezelfde vijf niet kreupele biggen gebruikt. 3) Vertonen de data verkregen door de accelerometer correlatie met hoe kreupel we de varkens zien lopen? Gedurende 24 uur wordt data verzameld met de accelerometer. Deze data worden vergeleken met de kreupelheidsscore van de big. Hiervoor worden 16 niet kreupele en 16 wel kreupele biggen gebruikt. Stap 2 betreft het vergelijking van de accelerometer met de stappenteller. Bij de zwangere zeugen worden zowel stappentellers als accelerometers vastgemaakt en gekeken of de data gelijkwaardig zijn. 1) Correlatie met de kreupelheidsscore. Hoe gevoelig zijn de apparaten en hoe specifiek zijn ze? 2) Gebruikskosten. 3) Gebruiksgemak. Voor deze test worden 16 kreupele en 16 niet kreupele zwangere zeugen gebruikt. Stap 3 betreft de invloed van pijnstilling op de activiteit van kreupele biggen. Data over de activiteit van een kreupele big verkregen met de accelerometer worden vergeleken voor en na de gift van pijnstilling. De inzet van proefdieren is noodzakelijk omdat wordt gezocht naar een manier om kreupelheid te detecteren bij levende dieren, op een manier die minimaal belastend is voor hen. Hiervoor is het belangrijk om het gedrag van de dieren te bestuderen. Activiteit kan ook alleen gemeten worden bij levende dieren.

Titel studie: Applying in vitro fertilization techniques to the horse

DEC nummer: 2013.III.12.090

De toepassing van in vitro fertilisatie technieken in het paard

Achtergrond: In de mens is IVF een veel gebruikte methode om een zwangerschap tot stand te brengen. Dit in tegenstelling tot het paard waar in vitro embryo productie nog niet erg succesvol is. Dit is grotendeels te wijten aan het lage percentage blastocyst vorming na bevruchting. Het verkrijgen van voldoende aantallen onrijpe eicellen uit een donor merrie is een start om methodes voor in vitro fertilisatie te testen en ontwikkelen. Hierbij worden ook eicelrijping, de diverse bevruchtingstechnieken en de eigenlijke embryo kweek worden geoptimaliseerd. Dit alles met als doel de methode als geheel te kunnen inzetten voor wetenschappelijk onderzoek maar ook klinisch te gebruiken voor dieren met vruchtbaarheidsproblemen.

Doel/hypothese: 1) Het verbeteren van de eicel collectie uit de merrie (OPU). 2) Het optimaliseren van in vitro eicelrijping. 3) Het verbeteren van de intracytoplasmatische sperma-injectie techniek (ICSI). 4) Het ontwikkelen van in vitro embryo kweek.

Globale aanpak vraagstelling: Het doel van dit project is om de praktische onderdelen benodigd voor in vitro embryo productie te optimaliseren. Dit als voorbereiding op het aanbieden van een commerciële dienst aan eigenaren van merries of hengsten met vruchtbaarheidsproblemen. De volgende praktische onderdelen zullen worden geoptimaliseerd: Eicel collectie Ovum Pick Up

(OPU), in vitro maturatie van oocyten/eicellen (IVM), fertilisatie d.m.v. intra-cytoplasmatische sperma-injectie (ICSI), in vitro embryo kweek en plaatsing van de in vitro geproduceerde embryo's in ontvangster merries.

Titel studie: Onderzoek naar de toxiciteit van in het marine milieu gevormde gebromeerde dioxines voor het verbeteren van de risico beoordeling voor mens en milieu

DEC nummer: 2013.III.12.091

Onderzoek naar de toxiciteit van de in het marine milieu gevormde gebromeerde dioxines voor het verbeteren van de risico beoordeling voor mens en milieu
Achtergrond: In het marine milieu worden verschillende gebromeerde dioxines (polybrominated dibenzo-p-dioxins (PBDDs)) gevormd die uiteindelijk terecht kunnen komen in de humane voedselketen, via bijvoorbeeld het eten van vis of schelpdieren. De risicobeoordeling van de veel bekendere gechloreerde dioxines (polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs)) wordt uitgevoerd m.b.v. het toxic equivalency factor (TEF) model opgesteld door de wereld gezondheidsorganisatie (WHO). In 2011, heeft de WHO samen met United Nations Enviroment (UNEP) tijdens een expert meeting vergaderd of ook de gebromeerde dioxines moeten worden toegevoegd aan dit TEF model. Tijdens deze expert meeting werd geconcludeerd dat gebromeerde dioxines een significante bijdrage kunnen leveren aan de dagelijkse blootstelling van de totale dioxine-achtige toxiciteit. Echter, dat in het bijzonder voor de in het marine milieu gevormde PBDDs nog onvoldoende data beschikbaar is om voor deze congeneren te kunnen concluderen of ze ook aan het TEF model moeten worden toegevoegd. De resultaten uit deze studie zullen uiteindelijk bijdragen tot een betere risico beoordeling en management van gebromeerde dioxines voor mens en milieu.
Doel/hypothese: Het verbeteren van de risicobeoordeling van gebromeerde dioxines door: i) Het bepalen van relatieve potenties (REPs) van de verschillende gebromeerde dioxines voor zowel toxische als biochemische eindpunten. ii) Het vergelijken van REPs berekend op basis van toegediende dosis of op basis van interne (systemische) concentraties. iii) Het onderzoeken van bruikbare biomarkers voor het verbeteren van humane risicobeoordeling.
Globale aanpak vraagstelling: Tijdens deze studie zullen de vijf meest belangrijke, in het marine milieu gevormde PBDDs, worden getest in tien weken oude vrouwelijke ratten. De dieren krijgen een eenmalige dosis en worden na drie dagen gedood. Na afloop van de in vivo studie zullen relatieve potenties (REPs) worden berekend voor de verschillende congeneren t.o.v. de referentie congener. Deze REPs worden berekend op basis van toxicologische eindpunten (zoals lever hyperplasia of thymus atrofie) en op basis van biochemische eindpunten (zoals verandering in CYP1A1, 1B1, 1A2 of AhRR gen expressie of activiteit) in meerdere weefsels. Omdat metabolisatie een belangrijke rol kan spelen voor de toxiciteit van deze congeneren, zijn de vijf meest belangrijke congeneren uitgekozen om deze in een in vivo model te testen. Helaas is het op dit moment nog niet mogelijk de volledige kinetiek die in vivo zo belangrijk is binnen

toxiciteitsstudies, in vitro na te bootsen. Ook is er nog niet genoeg kennis om met behulp van computermodellen dit doel te bereiken.

Titel studie: Evaluatie van de insuline gevoeligheid, gewichtsmonitoring en lichaamsconditie van (obese) pony's toegewezen aan twee 6-weekse afvalregimes (beperkt of intensieve beweging)

DEC nummer: 2013.III.12.092

Het effect van twee 6-weekse afval regimes bij pony's met overgewicht op de gewichtsafname en insuline gevoeligheid

Achtergrond: Onderzoek in binnen en buitenland wijst op een oververtegenwoordiging van dikke paarden in de gehouden paarden populatie. Overgewicht geeft een verhoogd risico op insuline resistentie en hoefbevangenheid (een zeer pijnlijke aandoening). Ook kan een overmatige conditie bij gevoelige dieren leiden tot een meer chronische aandoening die 'Equine Metabool Syndroom' genoemd wordt. Afvallen helpt de insuline gevoeligheid van deze dieren te herstellen en is een noodzakelijk onderdeel van de therapie. De Universiteitskliniek voor Paarden (UKP) heeft samen met de Afdeling Voeding (Departement Landbouwhuisdieren) een z.g.n. 'afvalkliniek' opgezet. Op basis van wetenschappelijke literatuur wordt een speciaal dieet en bewegingsadvies voorgeschreven om de lichaamsconditie en gezondheidstoestand van patiënten in de praktijk te verbeteren. Afvallen kan door minder energie op te nemen of door meer te bewegen en de energieopname niet te verhogen. In sommige gevallen laat de gezondheidstoestand het niet toe dat er beweging voorgeschreven wordt (een te dikke pony die hoefbevangen is geworden). Dan is men in eerste instantie aangewezen op afvallen via het rantsoen. Dit moet echter geleidelijk gebeuren. Op dit moment zijn er geen kwantitatieve gegevens bekend van pony's die onder gestandaardiseerde condities volgens dit 6-weekse regime afvallen. De voorgestelde proef heeft het doel zes pony's met overgewicht af te laten vallen op een dieet rantsoen met beperkte beweging (ca. een rantsoen dat 70% van de energiebehoefte op basis van het streefgewicht van de pony's bevat) en een combinatie van een dieet en beweging. Hiermee wordt inzicht gekregen hoe het wekelijkse gewichtsverlies onder het huidige voorgeschreven 6-weekse afvalregime verloopt. Er bestaat geen gecontroleerde informatie met betrekking tot het effect van deze in de kliniek gehanteerde afvalregimes op het gewichtsverloop, lichaamsconditie en insulinegevoeligheid. Inzicht in het gewichtsverloop is belangrijk omdat een te snel gewichtsverlies bij patiënten ook onwenselijk is. Om na te gaan in hoeverre de insuline gevoeligheid verbeterd is na een dergelijk afval regime wordt een orale glucose tolerantie test voor aanvang van de 6-weekse afval periode en na deze periode uitgevoerd. Zo mogelijk wordt ook gekeken hoe de lichaamssamenstelling (vetpercentage) veranderd is. De data en informatie die verkregen wordt, zal concreet gebruikt worden als ondersteuning bij het advies bij paarden en pony's met overgewicht. Het communiceren van verantwoorde afvalregimes en informatie hierover naar de praktijk is van belang voor het welzijn en de gezondheid van de paardenpopulatie in Nederland.

Doel/hypothese: Evaluatie van de insuline gevoeligheid, lichaamsconditiescore en gewichtsmonitoring van (obese) pony's toegewezen aan twee 6-weekse afvalregimes (met of zonder beweging).
Globale aanpak vraagstelling: Een afvalregime van zes weken waar de dieren voor en na getest worden op insuline gevoeligheid middels een orale glucose tolerantietest. Daarnaast worden parameters m.b.t. de lichaamsconditie en gewichtsverloop verzameld. Het gebruik van paardachtigen (pony's) is logisch aangezien dit het doeldier (patiënt) betreft en deze dieren in de praktijk vaak gevoelig zijn voor overgewicht.

Titel studie: Evaluatie van titanium dioxide en chroom oxide als verteerbaarheidsmarkers bij twee doseringsfrequenties in pony's

DEC nummer: 2013.III.12.093

Vergelijking tussen eenmaal of tweemaal daagse dosering van titanium dioxide en chroom oxide als verteerbaarheidsmarkers voor paardachtigen met de verteerbaarheid gemeten door middel van totale fecale collectie
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 dier- en welzijnsvriendelijke techniek met behulp van markers 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 paard specifieke informatie worden geactualiseerd. Door dit systeem te actualiseren kunnen paarden en pony's in Nederland beter naar behoeften worden gevoerd.
Doel/hypothese: Het evalueren, valideren en optimaliseren van het gebruik van titanium dioxide als merkstof bij het bepalen van verteringscoëfficiënten van voedermiddelen in paardachtigen bij verschillende doseringsfrequenties.
Globale aanpak vraagstelling: Het uiteindelijke doel van dit project is het ontwikkelen van een protocol voor het bepalen van de voedingswaarde van voedermiddelen voor paardachtigen met behulp van de markermethode (TiO2). Binnen het traject bestudeert deze studie specifiek de vergelijking tussen eenmaal of tweemaal daagse dosering van titanium dioxide en chroom oxide als verteerbaarheidsmarkers voor paardachtigen ten opzichte van de verteerbaarheid gemeten door middel van totale fecale collectie (TFC). Hiervoor wordt gedurende een periode van zes weken een verteringsonderzoek uitgevoerd, waarbij de verteerbaarheid van voedermiddelen met behulp van totale fecale collectie en de markermethode (TiO2 en Cr2O3) bij verschillende doseringsfrequenties van de markers in pony's zal worden bepaald. Het onderzoek kan niet zonder paarden/pony's worden uitgevoerd daar het de validatie van een methode betreft, die bij paardachtigen zou moeten worden toegepast. Het is dus noodzakelijk om het paard/pony in te zetten als proefdier om zo paard specifieke resultaten te kunnen verkrijgen. Iedere behandeling bestaat uit een adaptatie periode van twee weken op een gestandaardiseerd ruwvoer rantsoen waarin de pony's een maal of twee

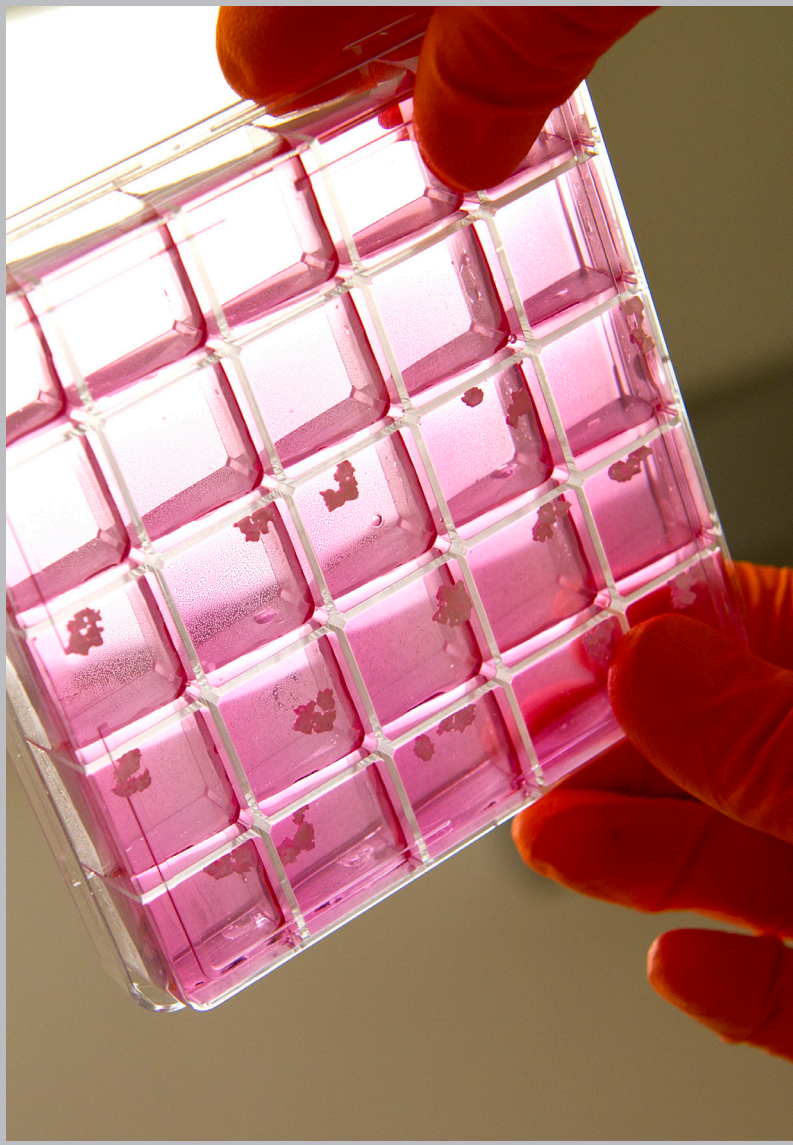
maal per dag de merkstof gedoseerd krijgen, gevolgd door een week kwantitatieve mestverzameling. Op basis van de gevoerde rantsoenen zijn geen klinische effecten te verwachten.

Titel studie: Pathophysiologie en therapieontwikkeling bij leukemie en multipel myeloom

DEC nummer: 2013.III.12.094

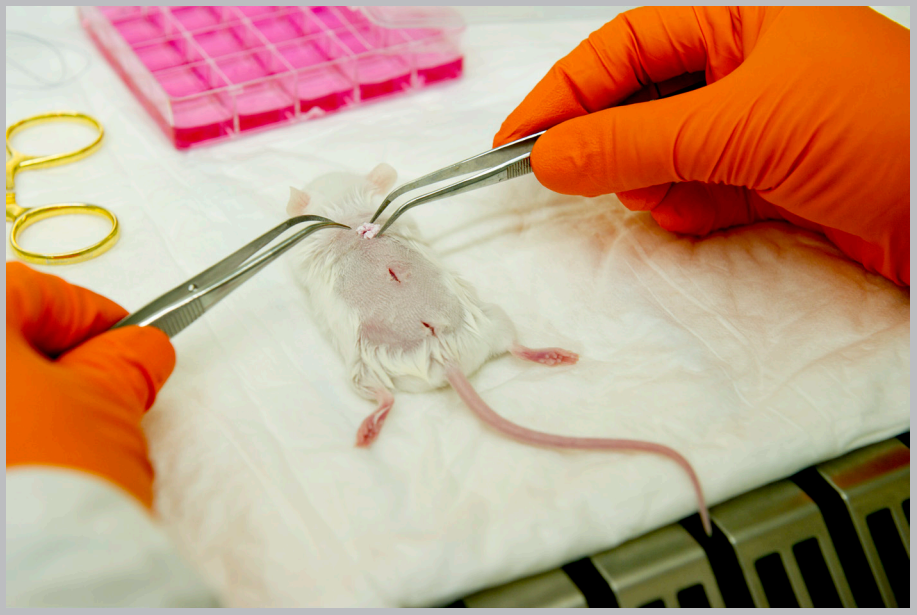
Karakterisatie van maligne stamcellen in acute leukemie en multipel myeloom met therapie ontwikkeling
Achtergrond: Multipel myeloom en acute leukemie zijn nog steeds levensbedreigende ziekten waar meer dan 50% van de leukemiepatiënten en 90 % van de myeloma patiënten aan zullen overlijden. Het ontwikkelen van nieuwe inzichten, die ons meer leren over de processen die de groei van deze ziekten sturen en daarnaast inzicht geven in de mechanismen die leiden tot resistentie voor de gebruikte medicatie, is van groot belang om nieuwe effectieve therapieën te ontwikkelen. Alleen langs deze weg is het mogelijk om de kans op genezing te vergroten. Deze nieuwe therapieën zijn van levensbelang voor deze patiëntengroep. Om dit onderzoek te kunnen uitvoeren is het van essentieel belang om de tumorcellen van deze patiënten te kunnen bestuderen. Echter, voor hun groei zijn de tumorcellen van leukemie en multipel myeloom (ziekte van Kahler) patiënten uitermate afhankelijk van de juiste locatie (in het beenmerg) omdat daar de specifieke groeifactoren en interacties met de steuncellen in het beenmerg kunnen plaatsvinden. In vitro studies zijn dus niet mogelijk. Door in een muis een 'gehumaniseerde bot/beenmerg omgeving' te creëren is het echter mogelijk gebleken om de tumorcellen van patiënten te laten groeien en kunnen we experimenten uitvoeren waarbij we nieuw ontwikkelde, of in ontwikkeling zijnde medicijnen kunnen gaan testen. Op die manier kunnen we onderzoeken welke, eventueel nieuw ontwikkelde medicijnen voor welke patiënten geschikt zijn. De wetenschap welke medicijnen meer of minder bijwerkingen hebben is belangrijk, o.a. ter voorkomen van de problemen van botherstel na therapie.
Doel/hypothese: Het eerste doel/hypothese van deze studie is om te onderzoeken of een nieuw monoclonaal antilichaam dat het CD38 molecule op het celmembraan van de tumorcellen herkent, gebruikt kan worden om de tumorcellen die zich om een speciale 'beschermde' plek in het beenmerg bevinden tóch te kunnen doden. Dit kunnen we onderzoeken in het door ons ontwikkelde muizenmodel, omdat we daarin een stukje humaan bot/beenmerg kunnen laten uitgroeien en waarin de leukemiecellen zich kunnen vestigen en groeien. Als ons onderzoek laat zien dat het antiCD38 monoclonaal werkzaam is (en eventueel bij welke patiëntensubgroep), kan het middel uitgeprobeerd gaan worden bij leukemie patiënten. Het tweede doel is het inzicht verkrijgen in de oorzaak van de schade die er achterblijft nadat een tumorhaard eenmaal door de chemotherapie is verdwenen. Zijn de stamcellen die weer bot moeten aanmaken beschadig/veranderd door het contact met de tumor of door de chemotherapie en in het laatste geval, welk middel geeft de meeste schade.
Globale aanpak vraagstelling: Tumorcellen van leukemie of multipel myeloom patiënten 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 voorgestelde studies uit te voeren. Hiertoe wordt er eerst in een muis een humane bot-omgeving gecreëerd door implantatie van een scaffold die bezaaid is met botvormende humane stamcellen (Mesenchymale Stromale Cellen (MSC)), in de immuundeficiënte RAG2GC muis. Daarin ontwikkelt zich humaan bot met daarop het hematopoietische steunweefsel (stroma, hematopoietische niche). Hierop kunnen vervolgens ingespoten/uitgezaaide tumorcellen (leukemie/myeloom) zich vestigen en tumoren gaan produceren. Dit biedt ons vervolgens de mogelijkheid om de biologische processen die deze stamcelgroei reguleren, in een 'natuurlijke omgeving' te bestuderen. Daarnaast biedt het de mogelijkheid om nieuwe vormen/middelen van therapie alsmede het ontstaan van resistentie te bestuderen. Door de tumorcellen te markeren met het luciferase-gen is de groei en overleving (bij therapie) met bioluminescentie te volgen. Ook kunnen we nadat de scaffolds weer uit de muis zijn gehaald analyseren in hoeverre het botherstellende vermogen van de stamcellen is aangetast. 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 experimenten uit te voeren.



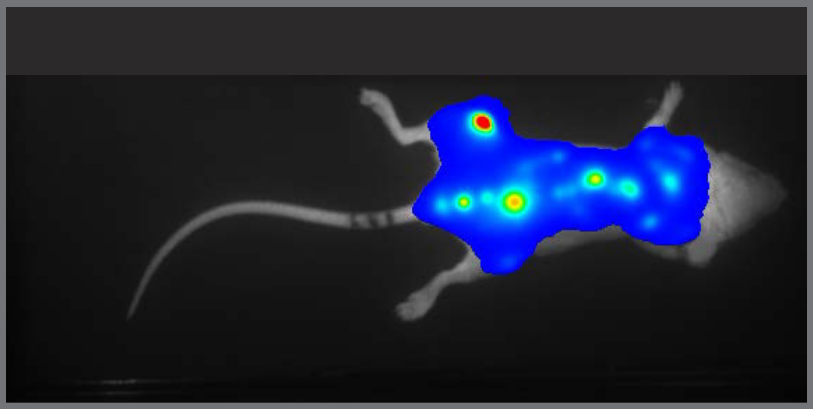


Vanuit drie sneetjes in het midden van de rug, worden de MSC beladen scaffolds onder de huid geplaatst waar ze minimaal 6 weken blijven zitten. Dan worden er humane cellen (leukemie- of multipel myeloom tumorcellen of normale stamcellen) geïnjecteerd. De uitgroei tot tumoren kan variëren van 2-10 maanden.









Bioluminescentie

Foto boven: Vlak voor de bioluminescentie meting worden de dieren geïnjecteerd met luciferine. Dit zal door de luciferase die aanwezig is in de tumorcellen worden omgezet waarbij licht (fotonen) worden geproduceerd. De muizen worden op een plateautje in het imaging-apparaat geschoven. Rechts een opname van de muizen op het beeldscherm.

Foto links: Hier is duidelijk de locatie en de intensiteit van het signaal van de tumoren te zien. Hoe 'roder', hoe sterker het signaal en hoe groter de tumor.

ANDERE VERGUNNINGHOUDERS

TNO

Titel studie: Het effect van voeding op darmgezondheid

DEC nummer: 2013.III.01.005

Het effect van voeding op darmgezondheid
Achtergrond: Deze aanvraag wordt gedaan voor het onderzoek naar de relatie tussen verschillende voedingsstoffen en het verzadingsgevoel dat deze stoffen veroorzaken. Om een aantal verschillende stoffen te kunnen testen willen we een model opzetten met stukjes darm. Met het darmweefsel van één varken kan op deze manier een aantal verschillende voedingsstoffen onderzocht worden. Om te testen of het model, wat is opgezet met darmweefsel van zieke dieren die om die reden gedood worden, goed werkt, moeten de belangrijkste parameters op gezond darmweefsel getest worden. Varkens zijn zeer geschikt voor dit onderzoek omdat het verteringsstelsel van het varken zeer op dat van de mens lijkt. Deze aanvraag wordt gedaan om gestandaardiseerd gezond darmweefsel te verkrijgen voor de optimalisatie van het ex vivo darm model.
Doel/hypothese: Het doel van deze studies is kennis te verkrijgen over de processen die in de darm plaatsvinden, gericht op de opname in de darm zowel op voedingsgebied als op farmacologisch gebied. Met deze kennis kunnen er uiteindelijk toepassingen gevonden worden tegen diabetes en obesitas en het testen van medicijnen.
Globale aanpak vraagstelling: Voor de studies wordt darmweefsel van gezonde varkens gebruikt waarbij de condities van het varken gecontroleerd zijn, zoals leeftijd, geslacht en het dieet van het varken. Er is ook nagedacht over alternatieven zoals cel experimenten of darmweefsel van andere bronnen maar helaas blijkt geen van deze alternatieven geschikt te zijn voor deze studie.

Genmab

Titel studie: Evaluatie in subcutane xenograft modellen

DEC nummer: 2013.III.01.009

Ontwikkeling van humane monoclonale antistoffen voor kankertherapie/evaluatie in subcutane xenograft modellen
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. Andere antistoffen worden gegenereerd met twee specifieke bindingsplaatsen, de zogenaamde bispecifieke antistoffen. Deze kunnen enerzijds specifiek aan kankercellen

binden en anderzijds aan menselijke immuun cellen, waardoor een optimale interactie wordt bewerkstelligd tussen, immuunsysteem en kankercel. Deze bispecifieke antistoffen zijn zeer potent in het verminderen van de tumorgroei, zoals al bewezen is met andere bispecifieke antistof-formaten die in klinische ontwikkeling zijn. In celkweek wordt uitvoerig bestudeerd hoe deze 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 tumormodellen, waarbij kankercellen afkomstig van mensen, onderhuids geïmplanteerd worden bij muizen, waarna ze al dan niet uitgroeien tot kleine tumoren, afhankelijk van de antistof therapie. Voor sommige antistof-formaten is een intact immuunsysteem van belang. Hiervoor worden experimenten uitgevoerd met muizen waarbij de muizen immuun cellen vervangen worden door menselijke immuuncellen. Vervolgens zullen menselijke kankercellen onderhuids 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 op die manier een completer beeld verkregen wordt. Celkweek-experimenten zijn vaak beperkt tot één werkingsmechanisme, terwijl in deze dierproeven meerdere mechanismen een bijdrage leveren aan de antistoftherapie, zoals o.a. de bloedvoorziening en het immuunsysteem.

Titel studie: Onderzoek effecten op subcutane tumoren met imaging technieken

DEC nummer: 2013.III.11.085

Evaluatie van monoclonale antistoffen voor behandeling van kanker met behulp van imaging in muizen
Achtergrond: Voor het ontwerpen van klinische studies is het nodig een doseringsschema te onderbouwen. Daartoe wordt de relatie tussen concentratie en effect uitgebreid onderzocht in in vitro proeven met gekweekte kankercellen. In vivo onderzoek met muizen wordt verricht om vervolgens informatie te krijgen over de concentratie van de antistoffen die in een tumor te verwachten is. De startdosis bij de mens kan dan gekozen worden op basis van combinatie van in vitro en in vivo resultaten
Doel/hypothese: Onderzoek met imagingtechnieken om na te gaan 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 (weinig ongerief). Er zullen gelabelde antistoffen toegediend worden waarna met imaging technieken (bij het levende dier) bestudeerd wordt hoe deze

de tumor binnendringen. Gelijktijdig zal met imaging op niet-invasieve wijze gekeken worden naar effecten van de behandeling op de tumor.

Universiteit Twente

Titel studie: The role of the adenomatous polyposis coli (ACP) gene in osteoarthritis

DEC nummer: 2013.III.06.043

Onderzoek naar de onderliggende mechanismen en mogelijkheden voor de behandeling van osteoarthrose
Achtergrond: De huidige reguliere behandeling van osteoarthrose (OA,) waarbij kraakbeen van het kniegewricht wordt aangetast (afgebroken), is voornamelijk gericht op het bestrijden van symptomen (zoals pijn) en het verbeteren van de mobiliteit van de patiënt, maar niet op genezing. Er zijn echter wel nieuwe behandelmethoden in ontwikkeling, maar deze bevinden zich nog in de onderzoeksfase.
De oorzaken van osteoarthrose zijn nog steeds niet geheel bekend. Daarom is het van belang onderzoek te doen naar het ontstaansmechanisme van OA. Inzicht in de oorzaken kan gebruikt worden om bestaande behandelingen te verbeteren en nieuwe methoden te ontwikkelen.
Doel/hypothese: In gezond kraakbeen zijn de opbouw- en afbraakprocessen in evenwicht door een uitgebalanceerde Wnt/beta-catenin signaalroute. Uit eerder onderzoek is gebleken dat dit evenwicht verstoord is en dat de hoeveelheid van het eiwit beta-catenin is verhoogd. De hoeveelheid van beta-catenin wordt onder andere beïnvloed door het eiwit adenomatous polyposis coli ofwel APC. Wanneer beta-catenin gebonden is aan het APC complex zal het worden afgebroken. Door nu het APC uit te schakelen in de weefsels van het kniegewricht van muizen, verwachten wij dat de hoeveelheid beta-catenin zal toenemen, het evenwicht zal verstoord raken en doorslaan naar een verhoogde afbraak van kraakbeen.
Globale aanpak vraagstelling: Met behulp van speciale transgene muizen kunnen we APC uitschakelen. Voor deze studie wordt het APC alleen in het kniegewricht uitgeschakeld. Hiervoor worden de muizen onder verdoving in het kniegewricht geïnjecteerd met niet-pathogene virussen. Eerst worden er proeven uitgevoerd om de experimentele condities te optimaliseren en vervolgens het uiteindelijke experiment. Na afloop van de proef worden de muizen gedood en worden de kniegewrichten geanalyseerd.

Diervoederbedrijf

Titel studie: Effects of different lactation diets on dry matter intake, milk production and composition, and health of lactating dairy cows
DEC nummer: 2013.III.03.031

Verbeteren van de levensduur en levensproductie van lacterend melkvee
Achtergrond: Een goede voeding en voedingsstrategie van melkkoeien is van belang voor het optimaliseren van de gezondheid en productie van de koe. Voeropname en de verwerking van de opgenomen nutriënten in het metabolisme van de koe is een ingewikkeld proces waarin zowel voer- als dierfactoren een rol spelen. Het verkrijgen van meer inzicht in het effect van voerstrategieën en voercomponenten op deze processen zal bijdragen in het verminderen van gezondheidsproblemen (waardoor de dieren langer op het melkveebedrijf kunnen blijven) en het verbeteren van de benutting van de opgenomen nutriënten (dus minder milieu belasting).
Doel/hypothese: Het verkrijgen van meer inzicht in het effect van voeders en voercomponenten op de nutriënt opname en op de metabole effecten van de opgenomen nutriënten.
Globale aanpak vraagstelling: Het metabole systeem van de koe (inclusief het ecosysteem in de pens met al zijn (veelal nog onbekende interacties) is een complex geheel. Er zijn geen modellen of in vitro systemen bekend welke het unieke metabole systeem van de koe volledig kunnen simuleren. Om deze reden kan dit onderzoek niet worden uitgevoerd zonder het doeldier, zijnde de koe. Tijdens het onderzoek worden verschillende voeders aan de dieren verstrekt. Naast het bepalen van voeropname en melkproductie, worden bloed- en urine monsters genomen om inzicht te krijgen in de metabole effecten van deze voeders.

Titel studie: Pilot Salmonella challenge
DEC nummer: 2013.III.05.040

Pilot studie Salmonella preventie model
Achtergrond: Salmonellose is een van de belangrijkste, door bacteriën veroorzaakte, darm-aandoeningen bij mensen. Dit kan overgedragen worden door het eten van met Salmonella besmet voedsel, zoals bv. vlees. Het is daarom belangrijk, de contaminatie van vlees, in dit geval van varkens, met Salmonella te voorkomen. Het is bij pluimvee al aangetoond dat het mogelijk is om de kolonisatie van Salmonella door voedingsinterventies te voorkomen. Om voedingsinterventies voor Salmonella ook op varkens te kunnen testen, is het van groot belang, een werkend model te ontwikkelen.
Doel/hypothese: Het ontwikkelen van een model om de effecten van dieet-additieven op salmonella kolonisatie en uitscheiding bij varkens te kunnen bepalen.
Globale aanpak vraagstelling: Voor het ontwikkelen van een werkend Salmonella preventie model bij varkens is het noodzakelijk dit in het doeldier te doen, omdat de kolonisatie van Salmonella in de darm van varkens niet in het lab getest kan worden. Voor een goed model is het in eerste instantie belangrijk om te kijken wat de juiste

dosis Salmonella is die wel kan koloniseren, maar waar de dieren geen last van ondervinden en dus niet ziek van worden. Daarom worden in dit experiment drie verschillende concentraties van Salmonella getest, een lage, een middel hoge en een hoge concentratie. Verder is het belangrijk om te kijken of een voedingsinterventie de kolonisatie van Salmonella kan verminderen of voorkomen. Daarom is als voedingsinterventie een product gekozen dat in pluimvee effectief Salmonella kolonisatie voorkomt. Deze voedingsinterventie zal ook bij drie verschillende Salmonella concentraties getest worden om te kijken bij welke concentratie een effect te zien is.

Titel studie: Effects of different transition diets on dry matter intake, production parameters, metabolic indicators and health of dairy cows

DEC nummer: 2013.III.12.089

Effect van verschillende voedingsstrategieën in de transitie periode op de voeropname, prestatie, metabole indicatoren en gezondheid van melkkoeien

Achtergrond: Een goede voeding (-strategie) van melkkoeien, in de van nature normale overgang (transitie periode) van niet-melkgevend naar melkgevend (na het baren van een kalf) is van belang voor de verbetering van de energiebalans en daardoor de gezondheid en productie van de melkkoe.

In deze periode wordt veel van de koe verwacht, zij gaat van droogstand (geen melkproductie) naar een melkproductie van 40 tot 50 liter per zes weken. Hierdoor moet de koe in relatief korte tijd vier keer zoveel energie opnemen. Het is dus van belang dat de voeding van de koe hierop is afgestemd.

Doel/hypothese: Het doel van dit onderzoek is het onderzoeken van verschillende voedingsstrategieën en producten om de gezondheid en prestatie van de melkkoe in de transitie periode te verbeteren.

Globale aanpak vraagstelling: Het metabole systeem van de koe (inclusief het ecosysteem in de pens met al zijn (veelal nog onbekende) interacties) is een complex geheel. Er zijn geen modellen of in vitro systemen bekend welke het unieke metabole systeem van de koe volledig kunnen simuleren. Om deze reden kan dit onderzoek niet worden uitgevoerd zonder het doeldier, zijnde de koe. Tijdens het onderzoek worden verschillende voeders aan de dieren verstrekt. Naast het bepalen van voeropname en melkproductie, worden bloed, mest en urine monsters genomen om inzicht te krijgen in de metabole effecten van deze voeders.

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	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2010								
2010.l.06.073	positief voor wijziging	32	onbekend	01 jul '14	proefdierdeskundige		1	
2010.l.06.073	positief voor wijziging	32	onbekend	01 jul '14	proefdierdeskundige		1	
2010.l.06.073	voorl. positief voor wijz.	32	onbekend	01 jul '14	ambtelijk afgehandeld		1	
2010.l.06.073	positief adv. voor wijz. met vr.	32	onbekend	01 jul '14	06 nov '13		1	
2010.l.06.076	positief voor wijziging	31	01 jul '10	01 jul '14	proefdierdeskundige			1
2010.l.08.103	positief voor wijziging	37	01 mrt '12	01 feb '14	proefdierdeskundige			1
2010.l.11.241	positief voor wijziging	32	22 nov '11	01 dec '13	proefdierdeskundige			1
2010.l.11.241	positief voor wijziging	32	22 nov '11	01 dec '13	proefdierdeskundige			1
2010.l.11.242	positief voor wijziging	32	15 nov '11	01 nov '13	proefdierdeskundige			1
2011								
2011.l.01.009	positief voor wijziging	31	01 jul '11	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2011.l.02.017	positief voor wijziging	32	01 feb '12	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2011.l.02.017	positief voor wijziging	32	01 feb '12	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2011.l.02.017	positief voor wijziging	32	01 feb '12	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2011.l.02.018	positief voor terugrap.	35	31 mrt '11	01 mrt '13	13 mrt '13		1	
2011.l.03.027	int. voor wijz., ambt. mogelijk	33	onbekend	01 mei '13	09 jan '13			1
2011.l.03.027	positief voor wijziging	33	onbekend	01 nov '13	ambtelijk afgehandeld			1
2011.l.03.027	positief voor wijziging	33	onbekend	01 nov '13	proefdierdeskundige			1
2011.l.03.027	positief voor wijziging	33	onbekend	01 nov '13	proefdierdeskundige			1
2011.l.03.030	positief voor wijziging	35	01 mei '12	01 jun '14	proefdierdeskundige		1	
2011.l.03.030	positief voor wijziging	35	01 mei '12	01 jun '14	proefdierdeskundige		1	
2011.l.03.030	positief voor wijziging	35	01 mei '12	01 jun '14	proefdierdeskundige		1	
2011.l.03.030	positief voor wijziging	35	01 mei '12	01 jun '14	proefdierdeskundige		1	
2011.l.03.037	positief voor wijziging	33	01 mrt '13	01 jun '13	proefdierdeskundige			1
2011.l.03.037	positief voor wijziging	33	01 mrt '13	01 jun '14	proefdierdeskundige			1
2011.l.03.037	positief voor wijziging	33	01 mrt '13	01 jun '14	proefdierdeskundige			1
2011.l.03.037	positief voor wijziging	33	01 mrt '13	01 jun '14	proefdierdeskundige			1
2011.l.03.037	positief voor wijziging	33	01 mrt '13	01 jun '14	proefdierdeskundige			1
2011.l.04.043	positief voor wijziging	33	01 sep '14	01 mei '12	proefdierdeskundige		1	
2011.l.08.081	positief voor wijziging	37	31 dec '11	01 sep '13	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2011.I.08.081	positief voor wijziging	37	31 dec '11	01 mei '14	proefdierdeskundige		1	
2011.I.09.084	positief voor wijziging	33	01 dec '13	01 okt '14	proefdierdeskundige			1
2011.I.09.090	positief voor wijziging	32	15 sep '12	01 nov '13	proefdierdeskundige		1	
2011.I.09.090	afgewezen voor wijziging	32	15 sep '12	01 nov '13	05 jun '13		1	
2011.I.11.104	positief voor wijziging	32	01 dec '12	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2011.I.11.109	positief voor wijziging	37	01 dec '12	01 dec '13	proefdierdeskundige			1
2012								
2012.I.01.002	positief voor wijziging	32	30 nov '12	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.01.002	positief voor wijziging	32	30 nov '12	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.01.004	positief voor wijziging	33	01 feb '13	01 feb ‘14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.01.005	positief voor wijziging	35	01 jan '17	01 feb ‘13	14 mrt '12		1	
2012.I.01.007	positief voor wijziging	32	01 jan '13	01 feb '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.01.010	positief voor wijziging	32	01 feb '14	01 feb ‘14	proefdierdeskundige			1
2012.I.01.010	positief voor wijziging	32	01 feb '14	01 feb ‘14	proefdierdeskundige			1
2012.I.02.011	positief voor wijziging	37	31 jan '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.02.012	positief voor wijziging	32	03 mrt '17	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.02.012	positief voor wijziging	32	03 mrt '17	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.02.013	positief voor wijziging	35	01 jan '17	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.02.013	positief voor wijziging	35	01 jan '17	01 mrt '14	13 feb '13		1	
2012.I.02.013	positief voor wijziging	35	01 jan '17	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.02.013	positief voor wijziging	35	01 jan '17	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.02.013	positief voor wijziging	35	01 jan '17	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.02.013	positief voor wijziging	35	01 jan '17	01 mrt '14	26 jun '13		1	
2012.I.02.013	positief voor wijziging	35	01 jan '17	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.02.014	positief voor wijziging	37	01 feb '17	01 jun '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.02.014	positief voor wijziging	37	01 feb '17	01 jun '13	14 aug '13		1	
2012.I.02.017	positief voor wijziging	32	20 feb '13	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.02.017	positief voor wijziging	32	20 feb '13	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.02.023	positief voor wijziging	32	01 feb '15	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.02.027	positief voor wijziging	32	15 feb '13	01 mrt '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.02.027	positief voor wijziging	32	15 feb '13	01 mrt '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.02.027	positief voor wijziging	32	15 feb '13	01 mrt '14	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.I.02.028	positief voor wijziging	37	01 mrt '13	01 jun '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.03.030	int. voor wijz.,ambt. mogelijk	37	01 apr '15	01 apr '15	13 feb '13			1
2012.I.03.030	positief voor wijziging	37	01 apr '15	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.030	positief adv. voor wijz. met vr.	37	01 apr '15	01 apr '15	ambtelijk afgehandeld	8, 37		1
2012.I.03.030	continuering positief advies	37	01 apr '15	01 apr '15	10 apr '13			1
2012.I.03.030	positief adv. voor wijz. reeds geg.	37	01 apr '15	01 apr '15	05 jun '13			1
2012.I.03.031	positief advies reeds gegeven	37	01 apr '15	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.031	continuering positief advies	37	01 apr '15	01 apr '15	10 apr '13			1
2012.I.03.032	positief voor wijziging	29	22 jun '12	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.032	cont. pos. met vr. en voorw.	29	22 jun '12	01 apr '15	13 mrt '13	7, 8, 37		1
2012.I.03.032	positief advies reeds gegeven	29	22 jun '12	01 apr '15	08 mei '13			1
2012.I.03.032	positief voor wijziging	29	22 jun '12	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.035	positief voor wijziging	32	01 apr '14	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.035	voorl. positief voor wijz.	32	01 apr '14	01 apr '14	ambtelijk afgehandeld			1
2012.I.03.035	positief voor wijziging	32	01 apr '14	01 apr '14	09 okt '13			1
2012.I.03.035	positief voor wijziging	32	01 apr '14	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.036	positief voor wijziging	33	01 mrt '13	01 apr '12	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.036	positief voor wijziging	33	01 mrt '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.036	positief voor wijziging	33	01 mrt '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.038	positief voor wijziging	32	01 mei '13	01 jul '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.03.039	positief voor wijziging	32	15 mrt '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.039	positief voor wijziging	32	15 mrt '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.039	positief voor wijziging	32	15 mrt '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.039	positief voor wijziging	32	15 mrt '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.041	positief voor wijziging	29	onbekend	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.03.041	positief voor wijziging	29	onbekend	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.03.044	positief voor wijziging	32	01 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.I.03.046	positief voor wijziging	32	01 apr '13	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.03.047	positief voor wijziging	32	31 aug '14	01 mei '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.03.047	afgewezen voor wijziging	32	31 aug '14	01 mei '14	27 nov '13			1
2012.I.04.049	positief voor wijziging	32	01 mei '13	01 mei '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.04.049	positief voor wijziging	32	01 mei '13	01 mei '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.04.051	positief voor wijziging	32	01 mei '13	01 mei '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.04.053	positief voor wijziging	33	28 apr '13	01 mei '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.04.053	positief voor wijziging	33	28 apr '13	01 jul '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.04.053	positief voor wijziging	33	28 apr '13	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec '15	01 mei '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec '15	01 mei '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec '15	01 mei '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec '15	01 mei '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec '15	01 mei '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec '15	01 mei '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec '15	01 mei '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec '15	01 mei '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.04.055	positief voor wijziging	37	31 dec '15	01 mei '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.04.059	positief voor wijziging	32	01 mei '13	01 mei '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.04.059	positief voor wijziging	32	01 mei '13	01 mei '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.04.059	positief voor wijziging	32	01 mei '13	01 aug '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.04.060	positief voor wijziging	35	01 apr '13	01 mei '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.04.060	positief voor wijziging	35	01 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.04.060	positief voor wijziging	35	01 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.05.062	positief voor wijziging	29	02 apr '13	01 jun '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.05.068	positief voor wijziging	32	onbekend	01 jun '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.05.070	positief voor wijziging	32	23 mei '13	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	1
2012.I.05.070	positief voor wijziging	32	23 mei '13	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	1
2012.I.05.070	positief voor wijziging	32	23 mei '13	01 jan '14	proefdierdeskundige		1	1
2012.I.05.071	positief voor wijziging	33	30 sep '14	01 jun '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.05.071	positief voor wijziging	33	30 sep '14	01 jun '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.05.071	positief voor wijziging	33	30 sep '14	01 jun '14	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.I.05.071	positief voor wijziging	33	30 sep '14	01 jun '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.05.075	positief voor wijziging	37	30 sep '14	01 jun '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.06.078	positief voor wijziging	33	01 jul '14	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.06.078	positief voor wijziging	33	01 jul '14	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.06.078	positief voor wijziging	33	01 jul '14	01 okt '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.08.085	positief voor wijziging	32	31 jul '13	01 sep '13	09 jan '13			1
2012.I.08.089	positief voor wijziging	32	15 aug '13	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.08.090	positief voor wijziging	32	30 apr '13	01 sep '13	13 mrt '13		1	
2012.I.08.090	positief voor wijziging	32	30 apr '13	01 sep '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.08.090	positief voor wijziging	32	30 apr '13	01 sep '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.08.091	positief voor wijziging	33	02 sep '13	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.08.093	positief voor wijziging	32	20 aug '13	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.08.093	positief voor wijziging	32	20 aug '13	01 sep '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.08.094	positief voor wijziging	32	01 apr '13	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.09.095	positief voor wijziging	32	23 sep '13	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.09.095	positief voor wijziging	32	23 sep '13	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.09.095	positief voor wijziging	32	23 sep '13	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.09.095	positief voor wijziging	32	23 sep '13	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.09.095	positief voor wijziging	32	23 sep '13	01 okt '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.09.096	positief voor wijziging	35	01 mei '13	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.I.09.097	positief voor wijziging	35	01 sep '13	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.10.099	positief advies reeds gegeven	37	23 nov '12	01 jan '15	09 jan '13			1
2012.I.10.099	positief voor wijziging	37	23 nov '12	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.I.10.100	positief voor wijziging	32	01 jan '14	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.10.100	positief voor wijziging	32	01 jan '14	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.10.100	positief voor wijziging	32	01 jan '14	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.10.100	positief voor wijziging	32	01 jan '14	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.10.100	positief voor wijziging	32	01 jan '14	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.10.100	positief voor wijziging	32	01 jan '14	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.10.100	positief voor wijziging	32	01 jan '14	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	
2012.I.10.103	positief voor wijziging	37	28 sep '17	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.10.103	positief voor wijziging	37	28 sep '17	01 dec '14	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.I.11.105	positief advies met opm.	37	31 aug '15	01 feb '15	ambtelijk afgehandeld			1
2012.I.11.106	positief voor wijziging	32	01 nov '13	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.107	positief voor wijziging	32	01 apr '13	01 dec '14	13 mrt '13			1
2012.I.11.107	positief voor wijziging	32	01 apr '13	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.11.107	voorl. positief voor wijz.	32	01 apr '13	01 dec '14	ambtelijk afgehandeld			1
2012.I.11.107	pos. adv. voor wijz. met opm.	32	01 apr '13	01 dec '14	14 aug '13	27		1
2012.I.11.108	continuering vraag	37	01 jan '16	01 dec '15	09 jan '13	31		1
2012.I.11.108	positief advies reeds gegeven	37	01 jan '16	01 dec '15	09 jan '13			1
2012.I.11.108	positief voor wijziging	37	01 jan '16	01 dec '15	proefdierdeskundige			1
2012.I.11.109	positief voor wijziging	32	01 nov '14	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.109	afgewezen voor wijziging	32	01 nov '14	01 dec '14	06 nov '13		1	
2012.I.11.110	positief advies reeds gegeven	3	31 dec '12	01 dec '14	09 jan '13		1	
2012.I.11.111	positief voor wijziging	32	11 nov '13	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.112	continuering vraag	32	30 nov '13		09 jan '13	15	1	
2012.I.11.112	aanvr. ingetrokken	32	30 nov '13		13 feb '13		1	
2012.I.11.113	positief advies reeds gegeven	32	01 jan '15	01 jan '15	09 jan '13		1	
2012.I.11.113	positief voor wijziging	32	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.113	positief voor wijziging	32	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.113	positief voor wijziging	32	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.113	positief voor wijziging	32	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.113	positief voor wijziging	32	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.113	positief voor wijziging	32	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.115	positief voor wijziging	32	31 dec '14	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2012.I.11.116	positief voor wijziging	31	15 nov '14	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.116	positief voor wijziging	31	15 nov '14	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.116	positief voor wijziging	31	15 nov '14	01 dec '14	09 okt '13		1	
2012.I.11.117	positief advies reeds gegeven	32	01 nov '15	01 dec '14	09 jan '13		1	
2012.I.11.117	positief voor wijziging	32	01 nov '15	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.118	positief voor wijziging	37	01 nov '13	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.I.11.118	positief voor wijziging	37	01 nov '13	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.118	positief voor wijziging	37	01 nov '13	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	
2012.I.11.119	positief voor wijziging	32	31 okt '13	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.I.11.119	afgewezen voor wijziging	32	31 okt '13	01 jan '15	14 aug '13			1
2012.I.12.121	positief voor wijziging	37	01 jun '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.121	positief voor wijziging	37	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.121	positief voor wijziging	37	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.121	positief voor wijziging	37	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.121	positief voor wijziging	37	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.122	positief advies reeds gegeven	32	31 mei '13	01 jan '15	09 jan '13			1
2012.I.12.123	positief advies reeds gegeven	32	01 mei '14	01 jan '15	09 jan '13		1	
2012.I.12.123	positief voor wijziging	32	01 mei '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.124	positief voor wijziging	32	01 jun '14	01 jan '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2012.I.12.124	positief voor wijziging	32	01 jun '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.125	positief voor wijziging	33	01 aug '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.125	positief voor wijziging	33	01 aug '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.126	positief advies reeds gegeven	32	31 dec '13	01 jan '15	09 jan '13			1
2012.I.12.126	positief voor wijziging	32	31 dec '13	01 jan '15	13 mrt '13			1
2012.I.12.126	pos. adv. voor wijz. met opm.	32	31 dec '13	01 jan '15	08 mei '13	31		1
2012.I.12.127	positief advies	35	01 jan '15	01 apr '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2012.I.12.127	positief voor wijziging	35	01 jan '15	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.127	positief voor wijziging	35	01 jan '15	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.127	voorl. positief voor wijz.	35	01 jan '15	01 apr '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2012.I.12.127	pos. adv. voor wijz. met opm.	35	01 jan '15	01 apr '15	14 aug '13		1	
2012.I.12.127	positief voor wijziging	35	01 jan '15	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.127	positief voor wijziging	35	01 jan '15	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.127	positief voor wijziging	35	01 jan '15	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.127	positief voor wijziging	35	01 jan '15	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.127	positief voor wijziging	35	01 jan '15	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.I.12.128	positief voor wijziging	37	01 dec '13	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.129	positief advies reeds gegeven	32	06 jan '14	01 jan '15	13 feb '13		1	
2012.I.12.129	positief voor wijziging	32	06 jan '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.129	positief voor wijziging	32	06 jan '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.130	pos. adv. reeds geg. met opm.	32	01 jan '15	01 jan '15	09 jan '13	31		1
2012.I.12.130	positief voor wijziging	32	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.I.12.131	positief voor wijziging	33	31 aug '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.131	positief advies reeds gegeven	33	31 aug '14	01 jan '15	13 feb '13		1	
2012.I.12.131	positief voor wijziging	33	31 aug '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.131	positief voor wijziging	33	31 aug '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.132	positief advies	33	01 sep '14	01 feb '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2012.I.12.132	positief voor wijziging	33	01 sep '14	01 feb '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.132	positief voor wijziging	33	01 sep '14	01 feb '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.132	positief voor wijziging	33	01 sep '14	01 feb '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.133	positief voor terugrap.		14 dec '12	01 jan '15	09 jan '13		1	
2012.I.12.134	continuering vraag	32	01 dec '14	01 jan '15	13 feb '13	31	1	
2012.I.12.134	continuering vraag	32	01 dec '14	01 jan '15	05 jun '13	31	1	
2012.I.12.134	pos. adv. reeds geg. met opm.	32	01 dec '14	01 jan '15	26 jun '13	10	1	
2012.I.12.134	positief voor wijziging	32	01 dec '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.I.12.135	positief advies	32	16 jan '14	01 jan '15	28 nov '12		1	
2012.I.12.136	positief advies reeds gegeven	29	11 mrt '13	01 jan '16	09 jan '13			1
2012.I.12.136	positief voor wijziging	29	11 mrt '13	01 jan '16	proefdierdeskundige			1
2012.I.12.137	positief voor wijziging	32	onbekend	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	
2013								
2013.I.01.001	intentie positief, ambt. mogelijk	23	29 feb '16		09 jan '13	3, 10, 31, 37		1
2013.I.01.001	positief advies met voorw.	23	29 feb '16	01 feb '16	ambtelijk afgehandeld	37		1
2013.I.01.002	intentie positief, ambt. mogelijk	23	29 feb '16		09 jan '13	9, 3, 39, 31	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.I.01.002	positief advies met voorw.	23	29 feb '16	01 feb '16	ambtelijk afgehandeld	37	1	
2013.I.01.003	intentie positief, ambt. mogelijk	23	29 feb '16		09 jan '13	1, 28, 31, 33, 39	1	
2013.I.01.003	positief advies met voorw.	23	29 feb '16	01 feb '16	ambtelijk afgehandeld	37	1	
2013.I.01.003	positief voor wijziging	23	29 feb '16	01 feb '16	proefdierdeskundige		1	
2013.I.01.004	positief advies met voorw.	35	31 dec '13	01 feb '16	09 jan '13	37		1
2013.I.01.004	positief voor wijziging	35	31 dec '13	01 feb '16	proefdierdeskundige			1
2013.I.01.004	positief voor wijziging	35	31 dec '13	01 feb '16	proefdierdeskundige			1
2013.I.01.004	positief voor wijziging	35	31 dec '13	01 feb '16	proefdierdeskundige			1
2013.I.01.004	positief voor wijziging	35	31 dec '13	01 feb '16	proefdierdeskundige			1
2013.I.01.004	positief voor wijziging	35	31 dec '13	01 feb '16	proefdierdeskundige			1
2013.I.01.005	intentie positief, ambt. mogelijk	37	31 dec '13		09 jan '13	31		1
2013.I.01.005	positief advies	37	31 dec '13	01 feb '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.I.01.006	vervallen							
2013.I.01.007	intentie positief, ambt. mogelijk	33	20 dec '13		09 jan '13	9, 19, 15	1	
2013.I.01.007	positief advies	33	20 dec '13	01 feb '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.01.007	positief voor wijziging	33	20 dec '13	01 feb '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.01.008	positief advies met vr. en opm.	37	01 jan '14	01 feb '15	09 jan '13	15,14,30	1	
2013.I.01.008	continuering vraaag	37	01 jan '14	01 feb '15	13 mrt '13	14	1	
2013.I.01.008	positief advies reeds gegeven	37	01 jan '14	01 feb '15	08 mei '13		1	
2013.I.01.009	intentie positief, ambt. mogelijk	32	03 jan '14		09 jan '13	7, 9, 33, 15	1	
2013.I.01.009	positief advies	32	03 jan '14	01 mrt '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.01.009	positief voor wijziging	32	03 jan '14	01 mrt '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.01.010	intentie positief, ambt. mogelijk	32	01 feb '14		09 jan '13	9, 33, 16		1
2013.I.01.010	positief advies	32	01 feb '14	01 feb '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.I.01.010	positief voor wijziging	32	01 feb '14	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.01.011	positief advies met opm.	32	01 feb '14	01 feb '15	09 jan '13	31, 37, 17		1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.I.01.011	positief advies reeds gegeven	32	01 feb '14	01 feb '15	13 feb '13			1
2013.I.01.012	positief advies met vr. en opm.	32	01 mei '13	01 feb '15	09 jan '13	7,39	1	
2013.I.01.012	continuering vraag	32	01 mei '13	01 feb '15	13 feb '13	39	1	
2013.I.01.012	positief advies reeds gegeven	32	01 mei '13	01 feb '15	13 mrt '13		1	
2013.I.01.012	positief voor wijziging	32	01 mei '13	01 feb '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.01.013	positief advies met opm.	33	03 feb '14	01 feb '15	09 jan '13	9		1
2013.I.01.013	positief advies reeds gegeven	33	03 feb '14	01 feb '15	13 feb '13			1
2013.I.01.013	positief voor wijziging	33	03 feb '14	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.01.013	pos. adv. voor wijz. met opm.	33	03 feb '14	01 feb '15	05 jun '13			1
2013.I.01.013	positief voor wijziging	33	03 feb '14	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.01.014	vervallen							
2013.I.01.015	positief advies met vr. en opm.	37	31 dec '13	01 feb '15	09 jan '13	31, 14, 33	1	
2013.I.01.015	continuering vraag	37	31 dec '13	01 feb '15	13 feb '13	27	1	
2013.I.01.015	positief advies reeds gegeven	37	31 dec '13	01 feb '15	10 apr '13		1	
2013.I.01.015	positief voor wijziging	37	31 dec '13	01 feb '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.01.016	aanhouden, ambt. mogelijk	32	01 feb '14		09 jan '13	14, 27, 31, 15	1	
2013.I.01.016	positief advies	32	01 feb '14	01 feb '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.01.016	positief voor wijziging	32	01 feb '14	01 feb '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.01.017	positief advies met vr. en opm.	37	01 dec '13	01 feb '15	09 jan '13	9, 28, 31	1	
2013.I.01.017	continuering vraag	37	01 dec '13	01 feb '15	13 feb '13	27	1	
2013.I.01.017	positief advies reeds gegeven	37	01 dec '13	01 feb '15	10 apr '13		1	
2013.I.01.017	positief voor wijziging	37	01 dec '13	01 feb '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.01.017	positief voor wijziging	37	01 dec '13	01 feb '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.01.017	positief voor wijziging	37	01 dec '13	01 feb '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.01.017	positief voor wijziging	37	01 dec '13	01 feb '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.02.018	positief advies met opm.	32	23 nov '12	01 mrt '15	13 feb '13	15		1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.I.02.018	positief advies reeds gegeven	32	23 nov '12	01 mrt '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.I.02.019	positief advies met opm.	33	26 aug '13	01 mrt '15	13 feb '13	39	1	
2013.I.02.019	positief advies reeds gegeven	33	26 aug '13	01 mrt '15	13 mrt '13		1	
2013.I.02.020	positief advies met opm. en vr.	37	31 dec '13	01 mrt '15	13 feb '13	39, 41, 26, 14	1	
2013.I.02.020	positief advies reeds gegeven	37	31 dec '13	01 mrt '15	10 apr '13		1	
2013.I.02.020	positief voor wijziging	37	31 dec '13	01 mrt '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.02.021	intentie positief, ambt. mogelijk	32	31 dec '14		13 feb '13	39, 31, 14		1
2013.I.02.021	positief advies	32	31 dec '14	01 mrt '15	13 feb '13			1
2013.I.02.021	positief voor wijziging	32	31 dec '14	01 mrt '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.02.022	aanhouden	35	16 feb '18		13 feb '13	7, 31, 14	1	
2013.I.02.022	positief advies met opm. en vr.	35	16 feb '18	01 apr '15	13 mrt '13	31, 14	1	
2013.I.02.022	positief advies reeds gegeven	35	16 feb '18	01 apr '15	10 apr '13		1	
2013.I.02.022	positief voor wijziging	35	16 feb '18	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.02.022	positief voor wijziging	35	16 feb '18	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.02.022	positief voor wijziging	35	16 feb '18	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.02.023	intentie positief, ambt. mogelijk	32	25 feb '14		13 feb '13	14, 31, 27		1
2013.I.02.023	positief advies	32	25 feb '14	01 mrt '15	13 feb '13			1
2013.I.02.023	positief voor wijziging	32	25 feb '14	01 mrt '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.02.024	positief advies met vr. en opm.	32	01 apr '14	01 mrt '15	13 feb '13	14, 15		1
2013.I.02.024	positief advies reeds gegeven	32	01 apr '14	01 mrt '15	13 mrt '13			1
2013.I.02.024	positief voor wijziging	32	01 apr '14	01 mrt '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.02.025	intentie positief, ambt. mogelijk	32	01 mrt '14		13 feb '13	43, 31		1
2013.I.02.025	positief advies	32	01 mrt '14	01 mrt '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.I.02.026	positief advies met vr.	35	30 nov '13	01 mrt '15	13 feb '13	31	1	
2013.I.02.026	positief advies reeds gegeven	35	30 nov '13	01 mrt '15	10 apr '13		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.I.02.026	positief voor wijziging	35	30 nov '13	01 mrt '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.02.026	positief voor wijziging	35	30 nov '13	01 mrt '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.02.026	positief voor wijziging	35	30 nov '13	01 mrt '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.02.027	pos. adv. met opm. en voorw.	32	28 feb '15	01 mrt '15	13 feb '13	43, 39, 37	1	
2013.I.02.027	positief advies reeds gegeven	32	28 feb '15	01 mrt '15	13 mrt '13		1	
2013.I.02.028	intentie positief, ambt. mogelijk	31	31 mrt '13		13 feb '13	31, 27	1	
2013.I.02.028	positief advies	31	31 mrt '13	01 mrt '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.02.028	positief voor wijziging	31	31 mrt '13	01 mrt '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.02.029	positief advies		onbekend	01 mrt '14	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.03.030	positief advies met opm.	32	04 mrt '14	01 apr '15	13 mrt '13	14	1	
2013.I.03.030	pos. adv. reeds geg. met opm.	32	04 mrt '14	01 apr '15	10 apr '13		1	
2013.I.03.031	intentie positief, ambt. mogelijk	32	01 apr '15		13 mrt '13	39, 15, 14, 31, 37, 4, 24	1	
2013.I.03.031	positief advies	32	01 apr '15	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.03.031	positief voor wijziging	32	01 apr '15	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.03.032	pos. adv. met opm. en voorw.	29	16 mei '13	01 apr '15	13 mrt '13	10, 15, 27, 37	1	
2013.I.03.032	positief advies reeds gegeven	29	16 mei '13	01 apr '15	10 apr '13		1	
2013.I.03.032	positief advies reeds gegeven	29	16 mei '13	01 apr '15	27 nov '13		1	
2013.I.03.033	intentie positief, ambt. mogelijk	32	04 mrt '14		13 mrt '13	7, 8, 14		1
2013.I.03.033	positief advies	32	04 mrt '14	01 apr '15	13 mrt '13			1
2013.I.03.033	positief voor wijziging	32	04 mrt '14	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.03.034	aanhouden	32	31 mrt '14		13 mrt '13	7, 14, 15, 33, 31, 24		1
2013.I.03.034	intentie positief, ambt. mogelijk	32	31 mrt '14		10 apr '13	15, 31		1
2013.I.03.034	positief advies	32	31 mrt '14	01 mei '15	10 apr '13			1
2013.I.03.034	positief voor wijziging	32	31 mrt '14	01 mei '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.03.035	positief advies met opm.	35	19 mrt '14	01 apr '15	13 mrt '13	26, 14		1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.I.03.035	positief advies reeds gegeven	35	19 mrt '14	01 apr '15	10 apr '13			1
2013.I.03.035	positief voor wijziging	35	19 mrt '14	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.03.035	positief voor wijziging	35	19 mrt '14	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.03.035	positief voor wijziging	35	19 mrt '14	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.03.035	positief voor wijziging	35	19 mrt '14	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.03.036	positief advies	32	01 mrt '14	01 apr '15	13 mrt '13			1
2013.I.03.037	intentie positief, ambt. mogelijk	37	01 mei '16		13 mrt '13	31, 14, 24	1	
2013.I.03.037	positief voor C1 en C3	37	01 mei '16	01 apr '13	13 mrt '13		1	
2013.I.03.037	positief voor wijziging	37	01 mei '16	01 apr '13	proefdierdeskundige		1	
2013.I.03.038	positief advies met opm. en vr.	32	01 mrt '14	01 apr '15	13 mrt '13	14, 15		1
2013.I.03.038	positief advies reeds gegeven	32	01 mrt '14	01 apr '15	10 apr '13			1
2013.I.03.038	positief voor wijziging	32	01 mrt '14	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.03.039	positief advies	35	26 jul '13	01 apr '15	13 mrt '13			1
2013.I.03.039	positief voor wijziging	35	26 jul '13	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.03.039	positief voor wijziging	35	26 jul '13	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.04.040	aanhouden	33	31 aug '14		10 apr '13	39, 31, 15, 17		1
2013.I.04.040	intentie positief, ambt. mogelijk	33	31 aug '14		09 okt '13	31		1
2013.I.04.041	intentie positief, ambt. mogelijk	33	30 sep '14		10 apr '13	39, 31		1
2013.I.04.042	positief advies met opm.	35	15 apr '15	01 mei '15	10 apr '13	28, 21, 38	1	
2013.I.04.042	positief advies reeds gegeven	35	15 apr '15	01 mei '15	10 apr '13		1	
2013.I.04.042	positief voor wijziging	35	15 apr '15	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.04.042	positief voor wijziging	35	15 apr '15	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.04.042	positief voor wijziging	35	15 apr '15	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.04.043	positief advies met opm.	32	27 mrt '15	01 mei '15	10 apr '13	39, 33, 15, 17, 38	1	
2013.I.04.043	positief advies reeds gegeven	32	27 mrt '15	01 mei '15	08 mei '13		1	
2013.I.04.044	intentie positief, ambt. mogelijk	24	01 mei '14		10 apr '13	28, 31, 15, 17	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.I.04.044	positief advies	24	01 mei '14	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.04.044	positief voor wijziging	24	01 mei '14	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.04.044	positief voor wijziging	24	01 mei '14	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.04.044	positief voor wijziging	24	01 mei '14	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.04.044	positief voor wijziging	24	01 mei '14	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.04.045	intentie positief, ambt. mogelijk	37	01 apr '14		10 apr '13	39, 31, 14	1	
2013.I.04.045	positief advies	37	01 apr '14	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.04.045	positief voor wijziging	37	01 apr '14	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.04.045	positief voor wijziging	37	01 apr '14	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.04.046	positief advies met opm.	32	01 mei '14	01 mei '15	10 apr '13	2		1
2013.I.04.046	positief voor wijziging	32	01 mei '14	01 mei '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.04.046	positief voor wijziging	32	01 mei '14	01 mei '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.04.047	positief advies met opm.	33	01 jun '15	01 mei '15	10 apr '13	31, 14, 33	1	
2013.I.04.047	positief advies reeds gegeven	33	01 jun '15	01 mei '15	05 jun '13		1	
2013.I.04.047	positief voor wijziging	33	01 jun '15	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.04.047	positief voor wijziging	33	01 jun '15	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.04.048	intentie positief, ambt. mogelijk	32	31 dec '13		10 apr '13	39, 31, 14	1	
2013.I.04.048	positief advies	32	31 dec '13	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.04.049	positief advies met vr. en opm.	35	14 jun '14	01 mei '15	10 apr '13	39, 30, 28	1	
2013.I.04.049	positief advies reeds gegeven	35	14 jun '14	01 mei '15	05 jun '13		1	
2013.I.04.049	positief voor wijziging	35	14 jun '14	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.04.049	positief voor wijziging	35	14 jun '14	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.04.049	positief voor wijziging	35	14 jun '14	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.05.050	positief advies met vr.	37	01 apr '14	01 jun '15	08 mei '13	27		1
2013.I.05.050	positief advies reeds gegeven	37	01 apr '14	01 jun '15	05 jun '13			1
2013.I.05.051	positief advies met opm.	32	30 apr '14	01 jun '15	08 mei '13	27		1
2013.I.05.052	intentie positief, ambt. mogelijk	32	30 jun '14		08 mei '13	31, 14, 9	1	
2013.I.05.052	positief advies	32	30 jun '14	01 jun '15	ambtelijk afgehandeld		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.I.05.052	int. voor wijz., ambt. mogelijk	32	30 jun '14	01 jun '15	09 okt '13	31	1	
2013.I.05.052	positief voor wijziging	32	30 jun '14	01 jun '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.05.053	positief advies met vr.	35	onbbekend	01 jun '15	08 mei '13	9		1
2013.I.05.053	positief advies reeds gegeven	35	onbekend	01 jun '15	26 jun '13			1
2013.I.06.054	aanhouden	29	01 mei '14		05 jun '13	14, 10, 15, 28, 16, 33	1	
2013.I.06.054	continuering aanhouden	29	01 mei '14		14 aug '13	14	1	
2013.I.06.054	continuering aanhouden	29	01 mei '14		11 september 2-013		1	
2013.I.06.055	intentie positief, ambt. mogelijk	37	01 jun '14		05 jun '13	7, 39, 31, 27	1	
2013.I.06.055	positief advies	37	01 jun '14	01 jul '13	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.06.056	intentie positief, ambt. mogelijk	36	05 jun '15		05 jun '13	31		1
2013.I.06.056	positief advies	36	05 jun '15	01 aug '15	05 jun '13			1
2013.I.06.056	positief voor wijziging	36	05 jun '15	01 aug '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.06.056	positief voor wijziging	36	05 jun '15	01 aug '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.06.056	positief voor wijziging	36	05 jun '15	01 aug '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.06.056	positief voor wijziging	36	05 jun '15	01 aug '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.07.057	intentie positief, ambt. mogelijk	32	30 jun '15		26 jun '13	39, 31, 26, 28		1
2013.I.07.057	positief advies	32	30 jun '15	01 aug '13	ambtelijk afgehandeld			1
2013.I.07.058	intentie positief, ambt. mogelijk	37	10 jan '14		26 jun '13	14, 7, 39, 30, 33	1	
2013.I.07.058	positief advies	37	10 jan '14	01 sep '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.07.058	positief voor wijziging	37	10 jan '14	01 sep '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.07.058	positief voor wijziging	37	10 jan '14	01 sep '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.07.059	positief advies met opm. en vr.	32	06 jul '14	01 jul '15	26 jun '13	39, 31, 33, 37		1
2013.I.07.059	positief advies reeds gegeven	32	06 jul '14	01 jul '15	14 aug '13			1
2013.I.07.060	intentie positief, ambt. mogelijk	32	07 mrt '14		26 jun '13	39, 31, 27, 38		
2013.I.07.060	positief advies	32	07 mrt '14	01 sep '15	ambtelijk afgehandeld			

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.I.07.061	intentie positief, ambt. mogelijk	32	31 dec '15		26 jun '13	31		
2013.I.07.061	positief advies met voorw.	32	31 dec '15	01 aug '16	ambtelijk afgehandeld	37		
2013.I.07.062	intentie positief, ambt. mogelijk	32	01 mrt '14		26 jun '13	39, 31, 14		1
2013.I.07.062	positief advies	32	01 mrt '14	01 sep '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.I.08.063	intentie positief, ambt. mogelijk	31	01 sep '16		14 aug '14	31, 27, 15, 14, 33	1	
2013.I.08.063	positief advies	31	01 sep '16	01 okt '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.08.063	positief voor wijziging	31	01 sep '16	01 okt '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.08.064	intentie positief, ambt. mogelijk	32	26 aug '14		14 aug '14	10, 31, 39	1	
2013.I.08.064	positief advies	32	26 aug '14	01 sep '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.08.064	positief voor wijziging	32	26 aug '14	01 sep '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.08.064	positief voor wijziging	32	26 aug '14	01 sep '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.08.064	positief voor wijziging	32	26 aug '14	01 sep '15	08 okt '13		1	
2013.I.08.065	positief advies met opm.	37	01 sep '14	01 sep '15	14 aug '14	7, 27, 33		1
2013.I.08.065	positief advies reeds gegeven	37	01 sep '14	01 sep '15	11 sep '13			1
2013.I.08.065	positief voor wijziging	37	01 sep '14	01 sep '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.08.066	aanhouden	3	30 sep '14		14 aug '14	8, 42, 7, 10, 27, 31, 41, 15	1	
2013.I.08.066	positief advies met opm.	3	30 sep '14	01 nov '15	09 okt '13		1	
2013.I.08.067	intentie positief, ambt. mogelijk	30	15 aug '14		14 aug '14	7, 31, 15, 30	1	
2013.I.08.067	positief advies	30	15 aug '14	01 okt '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.08.067	positief voor wijziging	30	15 aug '14	01 okt '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.08.068	intentie positief, ambt. mogelijk	32	01 sep '14		14 aug '14	39, 30, 31		1
2013.I.08.068	positief advies	32	01 sep '14	01 okt '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.I.08.068	positief voor wijziging	32	01 sep '14	01 okt '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.09.069	intentie positief, ambt. mogelijk	32	01 aug '15		11 sep '13	31, 14, 26, 18, 20, 33	1	
2013.I.09.069	positief advies met opm.	32	01 aug '15	01 nov '13	ambtelijk afgehandeld	18	1	
2013.I.09.070	positief advies met opm.	32	01 okt '14	01 okt '15	11 sep '13	10, 39, 31		1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.I.09.070	positief advies reeds gegeven	32	01 okt '14	01 okt '15	09 okt '13			1
2013.I.09.070	positief voor wijziging	32	01 okt '14	01 okt '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.09.071	intentie positief, ambt. mogelijk	31	01 sep '14		11 sep '13	14, 31	1	
2013.I.09.071	positief advies	31	01 sep '14	01 nov '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.09.072	positief advies met opm.	37	30 sep '18	01 okt '15	11 sep '13	14, 33, 17	1	
2013.I.09.072	positief advies reeds gegeven	37	30 sep '18	01 okt '15	09 okt '13		1	
2013.I.09.073	positief advies		onbekend	01 okt '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.09.073	positief voor wijziging		onbekend	01 okt '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.10.074	intentie positief, ambt. mogelijk	32	01 mei '14		09 okt '13	31, 33, 14		1
2013.I.10.074	positief advies	32	01 mei '14	01 dec '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.I.10.075	positief advies met vr. en voorw.	32	01 okt '15	01 nov '15	09 okt '13	37, 27, 33		1
2013.I.10.075	positief advies reeds gegeven	32	01 okt '15	01 nov '15	06 nov '13			1
2013.I.10.075	positief voor wijziging	32	01 okt '15	01 nov '15	proefdierdeskundige			1
2013.I.10.076	aanhouden	32	31 okt '14		09 okt '13	14,9,33,18	1	
2013.I.10.076	intentie positief, ambt. mogelijk	32	31 okt '14		27 nov '13	4,18,31	1	
2013.I.10.076	positief advies	32	31 okt '14	1 janauri 2016	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.10.077	intentie positief, ambt. mogelijk	37	15 okt '18		09 okt '13	31,15	1	
2013.I.10.077	positief advies	37	15 okt '18	01 nov '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.10.078	positief advies	37	15 sep '18	01 nov '15	09 okt '13			1
2013.I.10.079	intentie positief, ambt. mogelijk	32	06 nov '14		06 nov '13	41, 31, 14, 33, 38	1	
2013.I.10.079	positief advies	32	06 nov '14	01 dec '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.10.079	positief voor wijziging	32	06 nov '14	01 dec '15	proefdierdeskundige		1	
2013.I.11.080	intentie positief, ambt. mogelijk	32	15 nov '14		06 nov '13	14, 31, 33		1
2013.I.11.080	positief advies	32	15 nov '14	01 dec '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.I.11.081	intentie positief, ambt. mogelijk	37	01 jan '15		06 nov '13	14, 31	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.I.11.081	positief advies	37	01 jan '15	01 jan '16	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.I.11.082	intentie positief, ambt. mogelijk	32	01 sep '14		06 nov '13	7, 14, 15, 37, 31, 26		1
2013.I.11.082	positief advies	32	01 sep '14	1 janauri 2016	ambtelijk afgehandeld			1
2013.I.11.083	positief advies met opm.	33	31 aug '14	01 dec '15	06 nov '13	39, 41, 33		
2013.I.11.084	intentie positief, ambt. mogelijk	12	13 okt '15		06 nov '13	14, 41, 15, 33		1
2013.I.11.085	positief advies met vr.	35	31 dec '14	01 dec '15	27 nov '13	41, 14, 33, 38	1	
2013.I.11.086	positief advies met opm.	32	30 nov '15	01 dec '15	27 nov '13	41, 14		1
2013.I.11.087	intentie positief, ambt. mogelijk	31	01 jan '15		27 nov '13	31, 14, 39, 30, 33, 16, 15, 41	1	
2013.I.11.088	positief advies met opm. en vr.	32	01 jan '15	01 dec '15	27 nov '13	14, 41, 31, 18		1
2013.I.11.089	intentie positief, ambt. mogelijk	32	01 dec '14		27 nov '13	37, 31, 14, 18		1
2013.I.11.089	positief advies	32	01 dec '14	1 janauri 2016	ambtelijk afgehandeld			1
2013.I.11.090	intentie positief, ambt. mogelijk	32	01 jan '16		27 nov '13	7, 8, 14, 39, 16, 33	1	
2013.I.11.091	intentie positief, ambt. mogelijk	37	01 jan '16		27 nov '13	41, 27, 14, 15, 33	1	
2013.I.11.092	positief advies met opm. en vr.	32	12 dec '14	01 dec '15	27 nov '13	31, 14		1
2013.I.11.093	positief advies met opm.	35	06 jan '14	01 dec '15	27 nov '13	14, 31, 41, 33	1	

Overzicht

Kamer II

Hart/longen,

Immunologie & Infectie,

Vaten

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2007								
2007.II.03.107	positief voor wijziging	31	onbekend	01 mrt '14	proefdierdeskundige			1
2008								
2008.II.05.046	positief voor wijziging	31	21 mrt '12	01 mei '14	proefdierdeskundige			1
2009								
2009.II.08.077	positief voor wijziging	37	28 feb '10	01 dec '12	proefdierdeskundige			1
2010								
2010.II.03.059	positief voor wijziging	37	31 dec '10	01 apr '13	proefdierdeskundige			1
2010.II.03.059	positief voor wijziging	37	31 dec '10	01 apr '13	proefdierdeskundige			1
2010.II.03.059	positief voor wijziging	37	31 dec '10	01 apr '13	proefdierdeskundige			1
2010.II.03.059	positief voor wijziging	37	31 dec '10	01 jul '13	proefdierdeskundige			1
2010.II.03.059	positief voor wijziging	37	31 dec '10	01 jul '13	proefdierdeskundige			1
2010.II.03.059	aanhouden voor wijziging	37	31 dec '10	01 jul '13	15 mei '13	28, 8		1
2010.II.03.059	positief voor wijziging	37	31 dec '10	01 jan '14	12 jun '13			1
2010.II.03.059	positief voor wijziging	37	31 dec '10	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2010.II.03.059	positief voor wijziging	37	31 dec '10	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2010.II.04.062	cont. positief advies met opm.	29	01 aug '11	01 mei '13	21 feb '13	41		1
2010.II.07.126	positief voor wijziging	31	01 aug '11	01 aug '14	proefdierdeskundige		1	
2010.II.07.126	positief voor wijziging	31	01 aug '11	01 aug '14	proefdierdeskundige		1	
2011								
2011.II.01.010	positief voor wijziging	31	01 jan '13	01 feb '13	proefdierdeskundige		1	
2011.II.01.013	positief voor wijziging	31	01 feb '12	01 feb '14	proefdierdeskundige		1	
2011.II.01.013	positief voor wijziging	31	01 feb '12	01 feb '14	proefdierdeskundige		1	
2011.II.02.046	positief voor wijziging	37	01 mrt '12	01 mrt '13	proefdierdeskundige			1
2011.II.02.046	positief voor wijziging	37	01 mrt '12	01 mrt '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.02.046	positief voor wijziging	37	01 mrt '12	01 mrt '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.02.046	positief voor wijziging	37	01 mrt '12	01 mrt '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.03.056	positief voor wijziging	29	01 apr '12	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2011.II.03.056	positief voor wijziging	29	01 apr '12	01 okt '15	proefdierdeskundige		1	
2011.II.03.056	positief voor wijziging	29	01 apr '12	01 okt '15	proefdierdeskundige		1	
2011.II.03.058	positief voor wijziging	31	01 apr '13	01 apr '13	proefdierdeskundige		1	
2011.II.03.058	aanhouden voor wijziging	31	01 apr '13	01 apr '13	15 mei '13	20	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2011.II.03.058	positief voor wijziging	31	01 apr '13	01 apr '15	12 jun '13		1	
2011.II.04.065	positief voor wijziging	31	01 mei '12	01 nov '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.04.065	positief voor wijziging	31	01 mei '12	01 nov '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.04.065	positief voor wijziging	31	01 mei '12	01 nov '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	01 mei '12	01 nov '14	proefdierdeskundige		1	
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	01 mei '12	01 nov '14	proefdierdeskundige		1	
2011.II.04.067	positief voor wijziging	31	01 mei '12	01 nov '14	proefdierdeskundige		1	
2011.II.04.070	positief voor wijziging	31	01 mrt '11	01 jun '14	proefdierdeskundige		1	
2011.II.05.079	positief voor wijziging	33	01 sep '16	01 jul '13	proefdierdeskundige		1	
2011.II.05.079	voorl. pos.adv. voor wijz. met vr.	33	01 sep '16	01 jul '13	proefdierdeskundige	14	1	
2011.II.05.079	positief voor wijz. met vr.	33	01 sep '16	01 jul '13	21 feb '13	14	1	
2011.II.05.079	positief voor wijziging	33	01 sep '16	01 jul '14	21 feb '13		1	
2011.II.05.079	pos. adv. voor wijz. reeds geg.	33	01 sep '16	01 jul '14	21 aug '13		1	
2011.II.05.079	positief voor wijziging	33	01 sep '16	01 jul '14	21 aug '13		1	
2011.II.05.079	positief voor wijziging	33	01 sep '16	01 jul '14	proefdierdeskundige		1	
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	01 jun '12	01 jun '13	proefdierdeskundige			1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	01 jun '12	01 jan '14	21 feb '13			1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	01 jun '12	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	01 jun '12	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	01 jun '12	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	01 jun '12	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	01 jun '12	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	01 jun '12	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2011.II.05.093	positief voor wijziging	5	01 jun '12	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2011.II.05.098	positief voor wijziging	31	01 aug '13	01 jun '14	proefdierdeskundige		1	
2011.II.06.103	positief voor wijziging	1	01 apr '13	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.06.103	positief voor wijziging	1	01 apr '13	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.06.103	positief voor wijziging	1	01 apr '13	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.06.103	positief voor wijziging	1	01 apr '13	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.06.103	positief voor wijziging	1	01 apr '13	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2011.II.06.107	positief voor wijziging	37	01 jun '12	01 mei '13	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2011.II.08.115	positief voor terugrap.	31	01 dec '12	01 sep '13	16 okt '13			1
2011.II.08.125	positief voor terugrap.	36	15 sep '12	01 sep '12	18 sep '13		1	
2011.II.08.133	positief voor wijziging		01 sep '12	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2011.II.08.133	positief voor wijziging		01 sep '12	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.08.135	positief voor wijziging	12	01 mrt '12	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2011.II.08.135	positief voor wijziging	12	01 mrt '12	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2011.II.09.149	positief voor terugrap.	37	01 okt '12	01 okt '12	20 mrt '13		1	
2011.II.09.154	positief voor terugrap.	33	01 okt '12	01 okt '12	20 mrt '13			1
2011.II.09.156	positief voor terugrap.	33	01 okt '12	01 nov '12	13 feb '13			1
2011.II.10.164	positief voor wijziging	37	01 dec '12	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.10.164	positief voor wijziging	37	01 dec '12	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.10.164	positief voor wijziging	37	01 dec '12	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.10.164	positief voor wijziging	37	01 dec '12	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.10.164	positief voor wijziging	37	01 dec '12	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.10.164	positief voor wijziging	37	01 dec '12	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.10.166	positief voor wijziging	31	01 dec '12	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	
2011.II.10.166	positief voor wijziging	31	01 dec '12	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	
2011.II.10.167	positief voor wijz. met vr.	31	01 nov '15	01 dec '14	12 jun '13	14, 37		1
2011.II.10.167	pos. adv. voor wijz. reeds geg.	31	01 nov '15	01 dec '14	03 jul '13			1
2011.II.10.167	positief voor wijziging	31	01 nov '15	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.10.167	positief voor wijziging	31	01 nov '15	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2011.II.10.168	positief voor wijziging	31	01 dec '14	01 dec '13	proefdierdeskundige			1
2011.II.10.168	positief voor wijziging	31	01 dec '14	01 dec '13	proefdierdeskundige			1
2011.II.10.168	positief voor wijziging	31	01 dec '14	01 dec '13	proefdierdeskundige			1
2011.II.11.173	cont. positief advies reeds geg.	29	01 dec '14	01 dec '14	16 jan '13			1
2011.II.12.181	positief voor wijziging	36	01 nov '13	01 jan '14	proefdierdeskundige		1	
2011.II.12.181	positief voor wijziging	36	01 nov '13	01 jan '14	proefdierdeskundige		1	
2011.II.12.181	positief voor wijziging	36	01 nov '13	01 jan '14	proefdierdeskundige		1	
2011.II.12.181	positief voor wijziging	36	01 nov '13	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2011.II.12.183	positief voor wijziging	37	01 dec '12	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2011.II.12.183	positief voor wijziging	37	01 dec '12	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2011.II.12.187	positief voor wijziging	31	01 mrt '13	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2012								
2012.II.01.005	positief voor wijziging	33	onbekend	01 feb '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.01.005	continuering positief advies	33	onbekend	01 feb '15	20 mrt '13			1
2012.II.01.010	positief voor wijziging	31	15 feb '13	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.01.014	positief voor wijziging	33	01 jan '13	01 feb '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.02.023	positief voor wijziging		onbekend	01 mrt '15	21 mrt '12			
2012.II.02.024	positief voor wijziging	31	01 feb '13	01 mrt '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.02.027	positief voor wijziging	37	onbekend	01 mrt '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.02.029	positief voor wijziging		25 feb '13	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.02.030	positief voor wijziging	29	01 mrt '15	01 mrt '13	16 jan '13			1
2012.II.02.030	positief voor wijziging	29	01 mrt '15	01 mrt '15	proefdierdeskundige			1
2012.II.02.030	positief voor terugrap.	29	01 mrt '15	01 mrt '15	20 mrt '13			1
2012.II.02.030	positief voor wijziging	29	01 mrt '15	01 mrt '15	proefdierdeskundige			1
2012.II.02.031	voorl. positief voor wijz.	31	15 feb '13	01 mrt '14	ambtelijk afgehandeld		1	
2012.II.02.031	positief voor wijziging	31	15 feb '13	01 mrt '14	21 feb '13		1	
2012.II.02.032	positief advies reeds gegeven	31	01 mrt '13	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.02.033	positief voor wijziging	37	01 mrt '13	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.02.034	positief voor wijziging		25 feb '13	01 mrt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.02.034	positief voor wijziging		25 feb '13	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.02.034	positief voor wijziging		25 feb '13	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.02.039	positief voor wijziging	31	01 mrt '13	01 mei '14	20 mrt '13		1	
2012.II.02.040	positief voor wijziging	37	01 mrt '15	01 okt '15	03 jul '13		1	
2012.II.03.045	positief voor wijziging	37	09 nov '12	01 apr '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.045	positief voor wijziging	37	09 nov '12	01 apr '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.049	positief voor wijziging	33	1 aprill 2013	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.053	positief voor wijziging	37	01 apr '12	01 apr '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.053	positief voor wijziging	37	01 apr '12	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.053	positief voor wijziging	37	01 apr '12	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.053	positief voor wijziging	37	01 apr '12	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.053	positief voor wijziging	37	01 apr '12	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.II.03.053	positief voor wijziging	37	01 apr '12	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.053	positief voor wijziging	37	01 apr '12	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.053	positief voor wijziging	37	01 apr '12	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.053	positief voor wijziging	37	01 apr '12	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.053	positief voor wijziging	37	01 apr '12	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.054	positief voor wijziging	31	31 dec '13	01 mei '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.03.056	positief voor wijziging	37	31 dec '12	01 jun '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.04.063	positief voor wijziging	3	01 mei '13	01 mei '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.04.065	positief voor wijziging	31	01 jan '15	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.04.067	positief voor wijziging	33	01 jun '13	01 jul '15	21 aug '13		1	
2012.II.04.068	positief voor wijziging	2	01 jun '13	01 mei '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.04.068	positief voor wijziging	2	01 jun '13	01 mei '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.04.069	positief voor wijziging	33	01 apr '13	01 mei '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.04.069	positief voor wijziging	33	01 apr '13	01 mei '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.04.069	positief voor wijziging	33	01 apr '13	01 mei '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.05.074	positief voor wijziging	31	31 dec '13	01 jun '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.06.084	positief voor wijziging	3	14 jun '13	01 jul '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.06.085	positief voor wijziging	37	30 jun '13	01 jul '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.06.086	positief voor wijziging	8	01 aug '13	01 aug '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.06.086	positief voor wijziging	8	01 aug '13	01 aug '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.06.086	positief voor wijziging	8	01 aug '13	01 aug '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.06.086	positief voor wijziging	8	01 aug '13	01 aug '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.06.086	positief voor wijziging	8	01 aug '13	01 aug '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.06.086	positief voor wijziging	8	01 aug '13	01 aug '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.06.088	positief voor wijziging	37	13 jun '13	01 jul '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.07.092	positief voor wijziging	12	01 nov '13	01 aug '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.07.093	positief voor wijziging	37	31 jul '13	01 aug '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.07.095	positief voor wijziging	29	15 jul '13	01 aug '14	16 okt '12			
2012.II.07.097	positief voor wijziging	30	01 jul '13	01 aug '13	20 mrt '13			1
2012.II.07.097	positief voor wijziging	30	01 jul '13	01 aug '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.07.097	positief voor wijziging	30	01 jul '13	01 aug '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.07.097	positief voor wijziging	30	01 jul '13	01 aug '14	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.II.07.097	positief voor wijziging	30	01 jul '13	01 aug '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.07.100	positief voor wijziging	37	26 jun '15	01 aug '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.07.100	positief voor wijziging	37	26 jun '15	01 aug '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.07.101	positief voor wijziging	31	01 aug '13	01 sep '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.104	positief voor wijziging	37	01 dec '13	01 sep '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.104	positief voor wijziging	37	01 dec '13	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.105	positief voor wijziging	37	14 aug '13	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.105	positief voor wijziging	37	14 aug '13	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.105	positief voor wijziging	37	14 aug '13	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.106	int. voor wijz., ambt. mogelijk	33	01 sep '13	01 aug '13	21 aug '13	9, 41		1
2012.II.08.106	positief voor wijziging	33	01 sep '13	01 sep '14	ambtelijk afgehandeld			1
2012.II.08.106	positief voor wijziging	33	01 sep '13	01 sep '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.108	positief voor wijziging	37	01 sep '13	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.110	positief voor wijziging	36	01 sep '13	01 sep '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.110	positief voor wijziging	36	01 sep '13	01 sep '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.111	positief voor wijziging	33	01 sep '13	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.111	positief voor wijziging	33	01 sep '13	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.111	positief voor wijziging	33	01 sep '13	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.111	positief voor wijziging	33	01 sep '13	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.112	positief voor wijziging	36	01 sep '13	01 sep '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.113	positief voor wijziging	31	03 sep '13	01 sep '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.114	positief voor wijziging	37	01 okt '16	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.114	positief voor wijziging	37	01 okt '16	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.114	positief voor wijziging	37	01 okt '16	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.114	positief voor wijziging	37	01 okt '16	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.114	positief voor wijziging	37	01 okt '16	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.116	positief voor wijziging	36	31 aug '17	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.116	positief voor wijziging	36	31 aug '17	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.122	positief voor wijziging	31	01 jan '15	01 sep '15	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.122	positief voor wijziging	31	01 jan '15	01 sep '15	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.122	positief voor wijziging	31	01 jan '15	01 sep '15	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.122	positief voor wijziging	31	01 jan '15	01 sep '15	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.II.08.122	positief voor wijziging	31	01 jan '15	01 sep '15	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.122	positief voor wijziging	31	01 jan '15	01 sep '15	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.122	positief voor wijziging	31	01 jan '15	01 sep '15	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.124	afgewezen voor wijziging	31	01 sep '15	01 okt '14	12 jun '13			1
2012.II.08.124	positief voor wijziging	31	01 sep '15	01 okt '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.124	positief voor wijziging	31	01 sep '15	01 okt '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.08.125	positief voor wijziging	12	01 sep '15	01 sep '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.125	positief voor wijziging	12	01 sep '15	01 sep '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.125	positief voor wijziging	12	01 sep '15	01 sep '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.125	positief voor wijziging	12	01 sep '15	01 sep '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.126	positief voor wijziging	8	15 dec '12	01 okt '13	16 jan '13		1	
2012.II.08.129	positief voor wijziging	33	03 sep '14	01 sep '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.08.131	positief voor terugrap.	31	01 sep '13	01 sep '13	21 aug '13		1	
2012.II.09.132	positief voor wijziging	12	15 sep '13	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.09.132	positief voor wijziging	12	15 sep '13	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.09.132	positief voor wijziging	12	15 sep '13	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.09.133	positief voor wijziging	37	01 mei '13	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.133	positief voor wijziging	37	01 mei '13	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.133	positief voor wijziging	37	01 mei '13	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.134	positief voor wijziging	36	30 sep '13	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.134	positief voor wijziging	36	30 sep '13	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.134	positief voor wijziging	36	30 sep '13	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.136	positief voor wijziging	8	01 nov '13	01 nov '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.136	positief voor wijziging	8	01 nov '13	01 nov '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.136	positief voor wijziging	8	01 nov '13	01 nov '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.137	positief voor wijziging	37	01 okt '13	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.09.137	positief voor wijziging	37	01 okt '13	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.09.137	positief voor wijziging	37	01 okt '13	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.09.138	positief voor terugrap.	37	01 okt '13	01 okt '13	12 jun '13			1
2012.II.09.139	positief voor wijziging	33	01 nov '13	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.139	positief voor wijziging	33	01 nov '13	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.139	positief voor wijziging	33	01 nov '13	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.II.09.140	positief voor wijziging	37	01 sep '13	01 nov '12	proefdierdeskundige			1
2012.II.09.141	positief voor terugrap.	33	01 jun '13	01 okt '13	16 jan '13			1
2012.II.09.142	posisitef advies voor wijziging	33	01 okt '13	01 dec '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.09.142	afgewezen voor wijziging	33	01 okt '13	01 dec '13	16 okt '13			1
2012.II.09.143	positief voor wijziging	37	01 sep '13	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.09.143	positief voor wijziging	37	01 sep '13	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.09.144	positief voor wijziging	12	01 dec '14	01 okt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.145	positief voor wijziging	4	01 jun '13	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.145	positief voor wijziging	4	01 jun '13	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.145	positief voor wijziging	4	01 jun '13	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.145	positief voor wijziging	4	01 jun '13	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.145	positief voor terugrap.	4	01 jun '13	01 okt '13	13 nov '13		1	
2012.II.09.146	positief voor wijziging	31	01 okt '13	01 nov '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.146	positief voor wijziging	31	01 okt '13	01 nov '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.146	positief voor wijziging	31	01 okt '13	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.09.147	positief voor wijziging	31	01 okt '13	01 okt '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.10.148	positief voor wijziging	3	01 nov '13	01 dec '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.10.149	positief voor wijziging	8	01 aug '13	01 nov '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.10.149	positief voor wijziging	8	01 aug '13	01 nov '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.10.149	pos. adv. reeds geg. met opm.	8	01 aug '13	01 nov '13	12 jun '13		1	
2012.II.10.149	positief voor wijziging	8	01 aug '13	01 nov '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.10.150	positief voor wijziging	31	21 okt '13	01 nov '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.10.150	positief voor wijziging	31	21 okt '13	01 nov '13	03 jul '13		1	
2012.II.10.152	positief voor wijziging	13	17 okt '15	01 nov '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.10.152	int. cont. pos. adv., ambt. mog.	13	17 okt '15	01 nov '15	13 nov '13	41,31	1	
2012.II.10.152	continuering positief advies	13	17 okt '15	01 nov '15	04 dec '13		1	
2012.II.10.152	positief voor wijziging	13	17 okt '15	01 nov '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.10.153	positief voor wijziging	37	01 nov '13	01 nov '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.10.153	positief voor wijziging	37	01 nov '13	01 nov '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.10.153	positief voor wijziging	37	01 nov '13	01 nov '13	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.II.10.153	positief voor wijziging	37	01 nov '13	01 nov '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.10.153	positief voor wijziging	37	01 nov '13	01 nov '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.10.153	positief voor wijziging	37	01 nov '13	01 nov '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.10.153	positief voor wijziging	37	01 nov '13	01 nov '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.10.153	positief voor wijziging	37	01 nov '13	01 nov '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.10.154	positief voor wijziging	37	01 jan '14	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	
2012.II.10.156	positief voor wijziging	12	01 nov '13	01 dec '13	proefdierdeskundige			1
2012.II.10.156	positief voor terugrap.	12	01 nov '13	01 dec '13	16 okt '13			1
2012.II.10.156	positief voor wijziging	12	01 nov '13	01 nov '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.10.156	positief voor wijziging	12	01 nov '13	01 nov '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.10.156	positief voor terugrap.	12	01 nov '13	01 nov '14	16 okt '13			1
2012.II.11.158	positief voor wijziging	31	01 jul '13	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.11.160	positief voor wijziging	31	01 dec '14	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.11.161	positief advies reeds gegeven	36	01 feb '13	01 dec '14	16 jan '13		1	
2012.II.11.161	positief voor terugrap.	36	01 feb '13	01 dec '14	21 feb '13		1	
2012.II.11.162	positief voor wijziging	8	01 dec '14	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.11.162	positief voor wijziging	8	01 dec '14	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	
2012.II.11.162	positief voor wijziging	8	01 dec '14	01 mrt '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.11.162	positief voor wijziging	8	01 dec '14	01 mrt '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.11.164	positief voor terugrap.	33	01 jan '14	01 dec '14	21 feb '13		1	
2012.II.11.165	positief voor wijziging	31	01 dec '13	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.11.165	positief voor wijziging	31	01 dec '13	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.11.165	positief voor wijziging	31	01 dec '13	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.11.165	positief voor wijziging	31	01 dec '13	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.11.165	positief voor wijziging	31	01 dec '13	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.11.165	positief voor wijziging	31	01 dec '13	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.11.166	afgewezen cont. pos. adv.	29	31 mei '13	01 dec '14	04 dec '13			1
2012.II.11.169	positief voor wijziging	31	01 nov '15	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.11.170	positief voor wijziging	37	01 dec '13	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.11.170	positief voor wijziging	37	01 dec '13	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2012.II.11.171	positief voor wijziging	37	01 dec '13	01 dec '14	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.II.12.174	positief advies	31	01 dec '13	01 jan '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2012.II.12.175	continuering vr.	31	01 jan '14	01 jan '15	16 jan '13	31	1	
2012.II.12.175	positief advies reeds gegeven	31	01 jan '14	01 jan '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2012.II.12.175	positief voor wijziging	31	01 jan '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.12.175	positief voor wijziging	31	01 jan '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.12.177	positief voor wijziging	31	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.II.12.178	positief voor wijziging	31	01 jan '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.12.178	positief voor wijziging	31	01 jan '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.12.178	positief voor wijziging	31	01 jan '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.12.178	positief voor wijziging	31	01 jan '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.12.178	positief voor terugrap.	31	01 jan '14	01 jan '15	04 dec '13		1	
2012.II.12.179	pos. adv. C2, aanh. C1	36	01 mrt '13	01 feb '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2012.II.12.179	positief voor wijziging	36	01 mrt '13	01 feb '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.12.179	positief voor terugrap.	36	01 mrt '13	01 jun '15	15 mei '13		1	
2012.II.12.180	positief advies reeds gegeven	37	01 jan '14	01 jan '15	ambtelijk afgehandeld			1
2012.II.12.181	positief advies	31	01 jan '15	01 feb '15	16 jan '13			1
2012.II.12.182	positief voor wijziging	3	05 dec '13	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.II.12.182	positief voor wijziging	3	05 dec '13	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.II.12.183	positief voor wijziging	8	01 jan '14	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.II.12.183	positief voor wijziging	8	01 jan '14	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.II.12.184	positief voor wijziging	8	01 jan '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.12.184	positief voor wijziging	8	01 jan '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.12.184	positief voor wijziging	8	01 jan '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.II.12.185	positief voor pilot	19	31 dec '13	01 feb '15	ambtelijk afgehandeld	37	1	
2013								
2013.II.01.001	positief advies met opm.	37	02 dec '13	01 feb '15	16 jan '13	15, 33		1
2013.II.01.001	positief advies reeds gegeven	37	02 dec '13	01 feb '15	16 jan '13			1
2013.II.01.001	positief voor wijz. met vr.	37	02 dec '13	01 feb '15	21 feb '13			1
2013.II.01.001	pos. adv. voor wijz. reeds geg.	37	02 dec '13	01 feb '15	21 aug '13			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.II.01.002	positief advies met vr. en opm.	37	01 jan '14	01 feb '15	16 jan '13	15, 33		1
2013.II.01.002	positief advies reeds gegeven	37	01 jan '14	01 feb '15	21 feb '13			1
2013.II.01.002	positief voor wijziging	37	01 jan '14	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.01.002	positief voor wijziging	37	01 jan '14	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.01.003	intentie positief, ambt. mogelijk	33	01 feb '14		16 jan '13	27, 7, 9, 19	1	
2013.II.01.003	positief advies	33	01 feb '14	01 feb '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.01.003	positief voor wijziging	33	01 feb '14	01 feb '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.01.004	positief advies met opm.	37	01 feb '14	01 feb '15	16 jan '13	33		1
2013.II.01.004	positief advies reeds gegeven	37	01 feb '14	01 feb '15	21 feb '13			1
2013.II.01.005	intentie positief, ambt. mogelijk		onbekend		16 jan '13	7, 8		
2013.II.01.005	positief advies met voorw.		onbekend	01 feb '18	16 jan '13	37		
2013.II.01.006	intentie positief, ambt. mogelijk	12	02 jul '14		16 jan '13	31, 18, 14		1
2013.II.01.006	positief advies	12	02 jul '14	01 feb '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.01.006	positief voor wijziging	12	02 jul '14	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.01.006	positief voor wijziging	12	02 jul '14	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.01.006	positief voor wijziging	12	02 jul '14	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.01.006	positief voor wijziging	12	02 jul '14	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.01.007	positief advies met opm.	33	04 jan '14	01 feb '15	16 jan '13	27		1
2013.II.01.007	pos. adv. reeds geg. met opm.	33	04 jan '14	01 feb '15	21 feb '13			1
2013.II.01.008	positief advies met opm.	33	01 jan '15	01 feb '15	16 jan '13	9		1
2013.II.01.008	pos. adv. reeds geg. met opm.	33	01 jan '15	01 feb '15	21 feb '13			1
2013.II.01.008	positief advies reeds gegeven	33	01 jan '15	01 feb '15	17 apr '13			1
2013.II.01.008	positief voor wijziging	33	01 jan '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.01.008	positief voor wijziging	33	01 jan '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.02.009	intentie positief, ambt. mogelijk	8	15 apr '13		21 feb '13	31, 38		1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.II.02.009	positief advies	8	15 apr '13	01 mrt '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.02.009	positief voor wijziging	8	15 apr '13	01 mrt '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.02.009	positief voor terugrap.	8	15 apr '13	01 mrt '15	15 mei '13			1
2013.II.02.010	positief advies	33	01 dec '13	01 mrt '15	21 feb '13		1	
2013.II.02.011	positief advies met opm.	8	22 jun '13	01 mrt '15	21 feb '13			1
2013.II.02.011	positief advies reeds gegeven	8	22 jun '13	01 mrt '15	20 mrt '13			1
2013.II.02.011	positief voor wijziging	8	22 jun '13	01 mrt '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.02.012	aangehouden	33	01 mrt '14		21 feb '13	7, 10, 31, 33	1	
2013.II.02.012	intentie positief, ambt. mogelijk	33	01 mrt '14		17 apr '13	31, 8, 27	1	
2013.II.02.012	positief advies	33	01 mrt '14	01 jun '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.02.012	positief voor wijziging	33	01 mrt '14	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.02.012	positief voor wijziging	33	01 mrt '14	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.02.013	aangehouden	37	01 mrt '14		21 feb '13	9, 10, 28	1	
2013.II.02.013	continuering aanhouden	37	01 mrt '14		20 mrt '13		1	
2013.II.02.013	intentie positief, ambt. mogelijk	37	01 mrt '14		15 mei '13	7	1	
2013.II.02.013	positief advies	37	01 mrt '14	01 jun '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.02.013	positief voor wijziging	37	01 mrt '14	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.02.014	positief advies	8	31 dec '14	01 mrt '15	21 feb '13		1	
2013.II.02.014	positief voor wijziging	8	31 dec '14	01 mrt '15	21 aug '13		1	
2013.II.02.015	positief advies met opm.	37	25 feb '15	01 mrt '15	21 feb '13	30		1
2013.II.02.015	positief advies reeds gegeven	37	25 feb '15	01 mrt '15	20 mrt '13			1
2013.II.02.015	positief voor wijziging	37	25 feb '15	01 mrt '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.02.016	intentie positief, ambt. mogelijk	33	01 apr '14		21 feb '13	31		1
2013.II.02.016	positief advies	33	01 apr '14	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.02.017	intentie positief, ambt. mogelijk	33	01 mrt '14		21 feb '13	9, 31		1
2013.II.02.017	positief advies	33	01 mrt '14	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.02.018	intentie positief, ambt. mogelijk	37	01 aug '13		21 feb '13	9,14	1	
2013.II.02.018	positief advies	37	01 aug '13	01 apr '15	ambtelijk afgehandeld		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.II.02.018	positief voor wijziging	37	01 aug '13	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.02.018	positief voor wijziging	37	01 aug '13	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.02.019	positief advies met opm.	31	01 okt '14	01 mrt '15	21 feb '13	31, 16	1	
2013.II.02.019	positief advies reeds gegeven	31	01 okt '14	01 mrt '15	17 apr '13		1	
2013.II.02.019	positief voor wijziging	31	01 okt '14	01 mrt '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.02.020	aangehouden	31	01 dec '14		21 feb '13	7, 9, 33, 31, 19	1	
2013.II.02.020	positief advies met voorw.	31	01 dec '14	01 apr '15	20 mrt '13	37	1	
2013.II.02.020	positief voor wijziging	31	01 dec '14	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.02.021	intentie positief, ambt. mogelijk	36	06 apr '13		21 feb '13	10, 39, 31	1	
2013.II.02.021	positief advies	36	06 apr '13	01 apr '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.02.022	positief advies	37	01 mrt '15	01 mrt '15	21 feb '13			1
2013.II.02.022	positief voor wijziging	37	01 mrt '15	01 mrt '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.02.022	positief voor wijziging	37	01 mrt '15	01 mrt '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.02.023	aangehouden	33	01 mrt '14		21 feb '13	14, 39, 31	1	
2013.II.02.023	intentie positief, ambt. mogelijk	33	01 mrt '14		17 apr '13	31, 8	1	
2013.II.02.023	cont. int. pos. adv., ambt. mog.	33	01 mrt '14		19 sep '13	31	1	
2013.II.02.023	positef advies	33	01 mrt '14	01 nov '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.02.023	positief voor wijziging	33	01 mrt '14	01 nov '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.02.024	positief advies		onbekend	01 mrt '14	ambtelijk afgehandeld			
2013.II.02.024	positief voor wijziging		onbekend	01 mrt '14	proefdierdeskundige			
2013.II.03.025	aangehouden	36	01 feb '16		20 mrt '13	27, 9		1
2013.II.03.025	positief advies met voorw.	36	01 feb '16	01 mei '15	17 apr '13	37		1
2013.II.03.025	positief voor wijziging	36	01 feb '16	01 mei '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.026	positief advies met vr.		onbekend	01 apr '15	20 mrt '13	33	1	
2013.II.03.026	positief voor wijziging		onbekend	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.027	aangehouden, ambt. mogelijk	31	01 apr '14		20 mrt '13	9, 27, 33		1
2013.II.03.027	positief advies	31	01 apr '14	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.03.027	positief voor wijziging	31	01 apr '14	01 mei '15	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.II.03.028	positief advies met vr.	31	01 apr '14	01 apr '15	20 mrt '13	38, 14, 33, 37		1
2013.II.03.028	positief advies reeds gegeven	31	01 apr '14	01 apr '15	17 apr '13			1
2013.II.03.028	positief voor wijziging	31	01 apr '14	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.029	intentie positief, ambt. mogelijk	31	01 apr '14		20 mrt '13	33, 31, 14	1	
2013.II.03.029	positief advies	31	01 apr '14	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.03.029	positief voor wijziging	31	01 apr '14	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.030	positief advies met opm.	26	10 mrt '14	01 apr '15	20 mrt '13	31		1
2013.II.03.030	positief voor wijziging	26	10 mrt '14	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.030	positief voor wijziging	26	10 mrt '14	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.031	intentie positief, ambt. mogelijk	31	28 jun '13		20 mrt '13	33, 27	1	
2013.II.03.031	positief advies met voorw.	31	28 jun '13	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.03.032	intentie positief, ambt. mogelijk	31	18 mrt '14		20 mrt '13	33, 14		1
2013.II.03.032	positief advies met opm.	31	18 mrt '14	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld	2		1
2013.II.03.033	positief advies met vr. en opm.	37	01 apr '14	01 apr '15	20 mrt '13	14, 39, 27		1
2013.II.03.033	pos. adv. reeds geg. met opm.	37	01 apr '14	01 apr '15	15 mei '13	27		1
2013.II.03.034	intentie positief, ambt. mogelijk	8	01 apr '16		20 mrt '13	14, 15, 33, 9		1
2013.II.03.034	positief advies met voorw.	8	01 apr '16	01 mei '16	20 mrt '13	37		1
2013.II.03.034	positief voor wijziging	8	01 apr '16	01 mei '16	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.034	positief voor wijziging	8	01 apr '16	01 mei '16	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.034	positief voor wijziging	8	01 apr '16	01 mei '16	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.034	positief voor wijziging	8	01 apr '16	01 mei '16	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.035	aangehouden	37	01 apr '14		20 mrt '13	19, 31, 16, 28	1	
2013.II.03.035	continuering aanhouden	37	01 apr '14		15 mei '13	28, 31	1	
2013.II.03.035	positief advies	37	01 apr '14	01 jul '15	12 jun '13		1	
2013.II.03.035	positief voor wijziging	37	01 apr '14	01 jul '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.035	positief voor wijziging	37	01 apr '14	01 jul '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.035	positief voor wijziging	37	01 apr '14	01 jul '15	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.II.03.035	positief voor wijziging	37	01 apr '14	01 aug '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.035	positief voor wijziging	37	01 apr '14	01 aug '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.035	positief voor wijziging	37	01 apr '14	01 aug '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.035	positief voor wijziging	37	01 apr '14	01 aug '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.035	positief voor wijziging	37	01 apr '14	01 aug '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.036	intentie positief, ambt. mogelijk	30	01 apr '14		20 mrt '13	14		1
2013.II.03.036	positief advies	30	01 apr '14	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.03.036	pos. adv. voor wijz. met voorw.	30	01 apr '14	01 mei '15	proefdierdeskundige	4, 26, 37		1
2013.II.03.036	positief voor wijziging	30	01 apr '14	01 mei '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.036	positief voor wijziging	30	01 apr '14	01 mei '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.036	positief voor terugrap.	30	01 apr '14	01 mei '15	16 okt '13			1
2013.II.03.036	positief voor wijziging	30	01 apr '14	01 mei '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.037	positief advies	30	01 apr '14	01 apr '15	20 mrt '13		1	
2013.II.03.038	intentie positief, ambt. mogelijk	31	01 nov '14		20 mrt '13	14		1
2013.II.03.038	positief advies	31	01 nov '14	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.03.038	positief voor wijziging	31	01 nov '14	01 mei '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.039	positief advies met vr. en opm.	31	01 apr '14	01 apr '15	20 mrt '13	39, 14	1	
2013.II.03.039	positief advies reeds gegeven	31	01 apr '14	01 apr '15	17 apr '13		1	
2013.II.03.039	positief voor wijziging	31	01 apr '14	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.039	positief voor wijziging	31	01 apr '14	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.040	positief advies	12	01 jan '15	01 apr '15	20 mrt '13			1
2013.II.03.040	positief voor wijziging	12	01 jan '15	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.040	positief voor wijziging	12	01 jan '15	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.040	positief voor wijziging	12	01 jan '15	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.040	positief voor wijziging	12	01 jan '15	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.03.041	positief advies met opm.	3	01 mei '14	01 apr '15	20 mrt '13	31, 33, 37		1
2013.II.03.041	positief advies reeds gegeven	3	01 mei '14	01 apr '15	17 apr '13			1
2013.II.03.042	positief advies met vr. en opm.	33	01 okt '13	01 apr '15	20 mrt '13	39, 14,1 6, 33, 27	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.II.03.042	positief advies reeds gegeven	33	01 okt '13	01 apr '15	17 apr '13		1	
2013.II.03.042	positief voor wijziging	33	01 okt '13	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.042	positief voor wijziging	33	01 okt '13	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.03.043	aangehouden, ambt. mogelijk	33	01 apr '14		20 mrt '13	9, 39, 33, 27	1	
2013.II.03.043	positief advies	33	01 apr '14	01 apr '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.04.044	positief advies met opm.	33	15 apr '17	01 mei '15	17 apr '13	27, 26		1
2013.II.04.044	positief advies reeds gegeven	33	15 apr '17	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.04.045	intentie positief, ambt. mogelijk	37	01 mei '14		17 apr '13	15, 31	1	
2013.II.04.045	positief advies	37	01 mei '14	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.04.046	intentie positief, ambt. mogelijk	33	01 okt '13		17 apr '13	14	1	
2013.II.04.046	positief advies	33	01 okt '13	01 jun '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.04.046	positief voor wijziging	33	01 okt '13	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.04.047	aangehouden	31	01 jan '15		17 apr '13	14, 31, 24, 15	1	
2013.II.04.047	positief advies met voorw.	31	01 jan '15	01 jun '15	15 mei '13	37	1	
2013.II.04.047	positief voor wijziging	31	01 jan '15	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.04.048	positief advies met opm.	8	01 jul '13	01 mei '15	17 apr '13	31		1
2013.II.04.048	positief advies reeds gegeven	8	01 jul '13	01 mei '15	15 mei '13			1
2013.II.04.049	intentie positief, ambt. mogelijk	37	01 mei '14		17 apr '13	31, 14		1
2013.II.04.049	positief advies	37	01 mei '14	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.04.050	intentie positief, ambt. mogelijk	31	02 apr '14		17 apr '13	14, 31, 26, 30		1
2013.II.04.050	positief advies	31	02 apr '14	01 jun '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.04.050	positief voor wijziging	31	02 apr '14	01 jun '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.04.051	pos. adv. met opm. en voorw.	29	01 mei '14	01 mei '15	17 apr '13	33, 4	1	
2013.II.04.051	positief advies reeds gegeven	29	01 mei '14	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.04.051	positief voor wijziging	29	01 mei '14	01 mei '15	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.II.04.051	positief voor wijziging	29	01 mei '14	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.04.052	positief advies met vr.	33	01 mei '14	01 mei '15	17 apr '13	14		1
2013.II.04.052	continuering vr.	33	01 mei '14	01 mei '15	15 mei '13	14		1
2013.II.04.052	positief advies reeds gegeven	33	01 mei '14	01 mei '15	21 aug '13			1
2013.II.05.053	aanhouden	37	09 apr '14		15 mei '13	41, 14, 7, 31	1	
2013.II.05.053	intentie positief, ambt. mogelijk	37	09 apr '14		16 okt '13	14, 16	1	
2013.II.05.053	positief advies	37	09 apr '14	01 dec '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.05.053	positief voor wijziging	37	09 apr '14	01 dec '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.05.053	positief voor wijziging	37	09 apr '14	01 dec '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.05.053	positief voor wijziging	37	09 apr '14	01 dec '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.05.054	intentie positief, ambt. mogelijk	8	01 jul '15		15 mei '13	15	1	
2013.II.05.054	positief advies	8	01 jul '15	01 jun '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.05.055	intentie positief, ambt. mogelijk	31	01 jul '14		15 mei '13	27, 31, 14		1
2013.II.05.055	positief advies	31	01 jul '14	01 jun '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.05.055	positief voor wijziging	31	01 jul '14	01 jun '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.05.056	positief advies met opm.	31	03 jun '15	01 jun '15	15 mei '13	14		1
2013.II.05.056	positief advies reeds gegeven	31	03 jun '15	01 jun '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.05.057	intentie positief, ambt. mogelijk	33	01 jun '17		15 mei '13	14, 21		1
2013.II.05.057	positief advies	33	01 jun '17	01 jul '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.05.058	intentie positief, ambt. mogelijk	33	01 jun '17		15 mei '13	14, 21		1
2013.II.05.058	positief advies	33	01 jun '17	01 jun '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.05.059	aanhouden	37	01 jul '14		15 mei '13	7, 31, 14, 15	1	
2013.II.05.059	positief advies met opm.	37	01 jul '14	01 jul '15	12 jun '13	9, 31	1	
2013.II.05.059	positief advies reeds gegeven	37	01 jul '14	01 jul '15	03 jul '13		1	
2013.II.05.059	positief voor wijziging	37	01 jul '14	01 jul '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.05.059	positief voor wijziging	37	01 jul '14	01 jul '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.05.059	positief voor wijziging	37	01 jul '14	01 jul '15	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.II.05.059	positief voor wijziging	37	01 jul '14	01 jul '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.05.060	aanhouden	31	01 jul '15		15 mei '13	14, 15, 31	1	
2013.II.05.060	intentie positief, ambt. mogelijk	31	01 jul '15		12 jun '13	14	1	
2013.II.05.060	positief advies	31	01 jul '15	01 jul '15	12 jun '13		1	
2013.II.05.060	positief voor wijziging	31	01 jul '15	01 jul '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.05.061	aanhouden	33	01 jun '14		15 mei '13	8, 27, 39, 14, 31, 15, 19	1	
2013.II.05.061	positief advies met opm.	33	01 jun '14	01 jul '15	12 jun '13	9, 28	1	
2013.II.05.061	positief advies reeds gegeven	33	01 jun '14	01 jul '15	12 jun '13		1	
2013.II.06.062	positief advies met opm.	36	01 jul '14	01 jul '15	12 jun '13	7, 39		1
2013.II.06.062	positief advies reeds gegeven	36	01 jul '14	01 jul '15	03 jul '13			1
2013.II.06.062	positief voor wijziging	36	01 jul '14	01 jul '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.06.063	aangehouden	33	01 jun '14		12 jun '13	14, 7, 39, 27, 15	1	
2013.II.06.063	intentie positief, ambt. mogelijk	33	01 jun '14		12 jun '13	18, 19	1	
2013.II.06.063	positief advies	33	01 jun '14	01 nov '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.06.064	positief advies met vr. en opm.	12	21 okt '13	01 jul '15	12 jun '13	9, 31, 33		1
2013.II.06.064	positief advies reeds gegeven	12	21 okt '13	01 jul '15	21 aug '13			1
2013.II.06.064	positief voor wijziging	12	21 okt '13	01 jul '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.06.065	positief advies met vr. en opm.	31	01 jul '14	01 jul '15	12 jun '13	9, 33		1
2013.II.06.065	positief advies reeds gegeven	31	01 jul '14	01 jul '15	03 jul '13			1
2013.II.06.066	positief advies met vr. en opm.	31	01 jul '14	01 jul '15	12 jun '13	28, 33		1
2013.II.06.066	continuering vr.	31	01 jul '14	01 jul '15	03 jul '13	27		1
2013.II.06.066	positief advies reeds gegeven	31	01 jul '14	01 jul '15	21 aug '13			1
2013.II.06.067	positief advies	31	01 jun '14	01 jul '15	12 jun '13			1
2013.II.06.068	positief advies met opm.	31	01 jul '14	01 jul '15	12 jun '13	9, 39		1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.II.06.068	positief advies reeds gegeven	31	01 jul '14	01 jul '15	04 dec '13			1
2013.II.06.069	positief advies	36	onbekend	01 jul '15	12 jun '13		1	
2013.II.06.070	aangehouden	33	02 jun '14		12 jun '13	7, 9, 33, 27	1	
2013.II.06.070	positief advies met opm.	33	02 jun '14	01 aug '15	03 jul '13	14	1	
2013.II.06.070	positief advies reeds gegeven	33	02 jun '14	01 aug '15	21 aug '13		1	
2013.II.06.070	positief voor wijziging	33	02 jun '14	01 aug '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.06.071	positief advies met vr. en opm.	33	01 mei '15	01 jul '15	12 jun '13	39, 17	1	
2013.II.06.071	positief advies reeds gegeven	33	01 mei '15	01 jul '15	21 aug '13		1	
2013.II.06.072	aangehouden	37	01 jul '14		12 jun '13	8, 28, 31, 15	1	
2013.II.06.072	positief voor C2 met voorw.	37	01 jul '14	01 sep '15	21 aug '13	37	1	
2013.II.06.073	overname advies DEC Consult	nb	01 jan '15	01 jan '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.07.074	aangehouden	32	01 jul '14		03 jul '13	7, 8, 14, 27, 31, 21	1	
2013.II.07.075	positief advies met opm.	33	01 sep '14	01 aug '15	03 jul '13	14, 37		1
2013.II.07.075	positief advies reeds gegeven	33	01 sep '14	01 aug '15	21 aug '13			1
2013.II.07.076	positief advies	31	30 jun '14	01 aug '15	03 jul '13			1
2013.II.07.077	vervallen				03 jul '13			
2013.II.07.078	positief advies met opm.	33	01 sep '15	01 aug '15	03 jul '13	10, 27	1	
2013.II.07.078	positief advies reeds gegeven	33	01 sep '15	01 aug '15	21 aug '13		1	
2013.II.07.079	intentie positief, ambt. mogelijk	31	01 jul '14		03 jul '13	7, 39, 12, 27	1	
2013.II.07.079	positief advies	31	01 jul '14	01 aug '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.07.080	intentie positief, ambt. mogelijk	31	01 apr '15		03 jul '13	18, 31		1
2013.II.07.080	positief advies met voorw.	31	01 apr '15	01 aug '15	ambtelijk afgehandeld	37, 4		1
2013.II.07.080	positief voor wijziging	31	01 apr '15	01 aug '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.07.081	positief advies met vr.	31	01 jul '16	01 aug '15	03 jul '13	27		1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.II.07.081	positief advies reeds gegeven	31	01 jul '16	01 aug '15	21 aug '13			1
2013.II.07.081	positief voor wijziging	31	01 jul '16	01 aug '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.07.082	intentie positief, ambt. mogelijk	37	28 feb '14		03 jul '13	41, 14, 15, 39, 21	1	
2013.II.07.082	positief advies met voorw.	37	28 feb '14	01 sep '15	ambtelijk afgehandeld	37	1	
2013.II.07.083	positief advies met opm.	36	onbekend	01 aug '15	03 jul '13	10, 39		1
2013.II.07.083	positief advies reeds gegeven	36	onbekend	01 aug '15	21 aug '13			1
2013.II.07.084	intentie positief, ambt. mogelijk	37	01 jul '14		03 jul '13	8, 10, 27		1
2013.II.07.084	positief advies	37	01 jul '14	01 sep '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.07.084	positief voor wijziging	37	01 jul '14	01 sep '15	13 nov '13			1
2013.II.07.084	positief voor wijziging	37	01 jul '14	01 sep '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.07.085	intentie positief, ambt. mogelijk	33	01 aug '14		03 jul '13	7, 39, 31, 28, 14	1	
2013.II.07.085	positief advies	33	01 aug '14	01 sep '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.07.086	positief advies met opm.	31	01 sep '15	01 aug '15	03 jul '13	10, 37, 39	1	
2013.II.07.086	positief advies reeds gegeven	31	01 sep '15	01 aug '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.08.087	pos. adv. met opm. en voorw.	36	31 aug '17	01 sep '16	21 aug '13	33, 15, 37		1
2013.II.08.087	positief advies reeds gegeven	36	31 aug '17	01 sep '16	18 sep '13			1
2013.II.08.088	aangehouden	31	01 sep '14		21 aug '13	42, 39, 31, 9, 14	1	
2013.II.08.088	positief advies	31	01 sep '14	01 okt '15	18 sep '01		1	
2013.II.08.088	positief voor wijziging	31	01 sep '14	01 okt '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.08.088	positief voor wijziging	31	01 sep '14	01 okt '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.08.088	positief voor wijziging	31	01 sep '14	01 okt '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.08.089	intentie positief, ambt. mogelijk	33	01 sep '14		03 jan '00	9, 16, 15, 33		1
2013.II.08.089	pos. adv. C1, cont. int. C2, C3	33	01 sep '14	01 sep '15	ambtelijk afgehandeld	37		1
2013.II.08.090	intentie positief, ambt. mogelijk	33	01 sep '14		21 aug '13	9, 27, 31		1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.II.08.090	positief advies	33	01 sep '14	01 okt '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.08.091	positief advies met opm.	12	01 apr '14	01 sep '15	21 aug '13		1	
2013.II.08.092	intentie positief, ambt. mogelijk	37	15 sep '16		21 aug '13	14, 27	1	
2013.II.08.092	positief advies	37	15 sep '16	01 okt '15	21 aug '13		1	
2013.II.08.093	positief advies	31	02 aug '14	01 sep '15	21 aug '13			1
2013.II.08.094	pos. adv. pilot met voorw.	31	31 dec '14	01 sep '15	21 aug '13	15, 37		1
2013.II.08.094	positief advies reeds gegeven	31	31 dec '14	01 sep '15	21 aug '13			1
2013.II.08.094	positief voor terugrap.	31	31 dec '14	01 sep '15	13 nov '13			1
2013.II.08.095	pos. adv. met opm. en voorw.	29	04 sep '16	01 jun '16	21 aug '13	37		1
2013.II.08.096	aangehouden	37	04 nov '13		21 aug '13	14, 31, 9, 38, 33		1
2013.II.08.096	ingetrokken	37	04 nov '13		18 sep '13			1
2013.II.08.097	positief advies met opm.	37	01 sep '15	01 sep '15	21 aug '13	39, 27	1	
2013.II.08.097	positief advies reeds gegeven	37	01 sep '15	01 sep '15	18 sep '13		1	
2013.II.08.097	positief voor wijziging	37	01 sep '15	01 sep '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.08.097	positief voor wijziging	37	01 sep '15	01 sep '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.08.098	positief advies met vr. en opm.	37	01 sep '15	01 sep '15	21 aug '13	9, 15, 16		1
2013.II.08.098	positief advies reeds gegeven	37	01 sep '15	01 sep '15	16 okt '13			1
2013.II.09.099	aanhouden	31	31 dec '14		18 sep '13	39, 31, 7, 14, 18, 33		1
2013.II.09.099	voorlopig positief advies	31	31 dec '14	01 nov '15	emailronde enkele DEC-leden			1
2013.II.09.099	positief advies	31	31 dec '14	01 nov '15	16 okt '13			1
2013.II.09.100	intentie positief, ambt. mogelijk	3	20 sep '15		18 sep '13	31, 14		1
2013.II.09.100	positief advies	3	20 sep '15	01 nov '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.09.101	positief advies met vr.	37	25 nov '13	01 okt '15	18 sep '13	26		1
2013.II.09.101	positief advies reeds gegeven	37	25 nov '13	01 okt '15	16 okt '13			1
2013.II.09.101	positief voor terugrap.	37	25 nov '13	01 okt '15	04 dec '13			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.II.09.102	positief advies met vr. en opm.	12	31 mei '15	01 okt '15	18 sep '13	41, 26, 28	1	
2013.II.09.102	continuering vr.	12	31 mei '15	01 okt '15	16 okt '13	27	1	
2013.II.09.102	positief advies reeds gegeven	12	31 mei '15	01 okt '15	13 nov '13		1	
2013.II.09.103	intentie positief, ambt. mogelijk	36	16 nov '13		18 sep '13	18, 31, 14, 15		1
2013.II.09.103	positief advies	36	16 nov '13	01 dec '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.09.104	positief advies	8	01 apr '14	01 okt '15	18 sep '13			1
2013.II.09.104	positief voor wijziging	8	01 apr '14	01 okt '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.09.104	positief voor wijziging	8	01 apr '14	01 okt '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.09.105	aanhouden, ambt. mogelijk	37	01 sep '15		18 sep '13	14, 21	1	
2013.II.09.105	pos. adv. C1, int. pos. C2	37	01 sep '15	01 nov '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.09.106	intentie positief, ambt. mogelijk	37	01 nov '14		16 okt '13	27, 41		1
2013.II.09.106	positief advies	37	01 nov '14	01 dec '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.10.107	intentie positief, ambt. mogelijk	36	08 nov '14		16 okt '13	14, 19, 26	1	
2013.II.10.107	positief advies	36	08 nov '14	01 nov '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.10.108	intentie positief, ambt. mogelijk	37	01 sep '14		16 okt '13	15, 39, 16, 31	1	
2013.II.10.108	positief advies	37	01 sep '14	01 nov '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.10.109	intentie positief, ambt. mogelijk	13	02 dec '13		16 okt '13	15	1	
2013.II.10.109	cont. int. pos., ambt. mogelijk	13	02 dec '13		25 nov '13	14	1	
2013.II.10.110	pos. adv. met opm. en voorw.	33	01 aug '15	01 nov '15	16 okt '13	41, 16, 37		1
2013.II.10.111	positief advies met vr. en opm.	37	01 nov '13	01 nov '15	16 okt '13	10, 27	1	
2013.II.10.111	positief advies reeds gegeven	37	01 nov '13	01 nov '15	13 nov '13		1	
2013.II.10.111	positief voor wijziging	37	01 nov '13	01 nov '15	proefdierdeskundige		1	
2013.II.10.112	pos. adv. met opm. en voorw.	3	30 nov '15	01 nov '15	16 okt '13			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.II.10.112	positief advies reeds gegeven	3	30 nov '15	01 nov '15	13 nov '13			1
2013.II.11.113	intentie positief, ambt. mogelijk	3	01 nov '14		13 nov '13	39, 9, 26, 16, 41, 14, 42, 31	1	
2013.II.11.113	positief advies	3	01 nov '14	01 jan '16	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.11.114	positief advies met vr. en opm.	33	01 dec '15	01 dec '15	13 nov '13	41, 14, 15		1
2013.II.11.115	intentie positief, ambt. mogelijk	31	01 dec '14		13 nov '13	10, 7, 31, 15		1
2013.II.11.115	positief advies	31	01 dec '14	01 dec '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.II.11.116	positief advies met vr. en opm.	33	15 nov '14	01 dec '15	13 nov '13	9, 27, 18		1
2013.II.11.116	pos. adv. reeds geg. met opm.	33	15 nov '14	01 dec '15	04 dec '13			1
2013.II.11.116	positief voor wijziging	33	15 nov '14	01 dec '15	proefdierdeskundige			1
2013.II.11.117	intentie positief, ambt. mogelijk	31	15 nov '15		13 nov '13	14, 41, 31, 16, 15, 20	1	
2013.II.11.117	positief advies met opm.	31	15 nov '15	01 jan '16	ambtelijk afgehandeld	37	1	
2013.II.11.118	overname advies DEC BPRC		01 apr '14		ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.12.119	positief advies met vr. en opm.	31	02 feb '15	01 jan '16	04 dec '13	7, 16, 41, 4		1
2013.II.12.120	pos. adv. met vr, opm en voorw.	31	01 aug '16	01 jan '16	04 dec '13	2, 14, 33		1
2013.II.12.121	intentie positief, ambt. mogelijk	12	17 nov '14		04 dec '13	14, 16, 33, 4	1	
2013.II.12.121	positief advies met voorw.	12	17 nov '14	01 jan '16	ambtelijk afgehandeld	37	1	
2013.II.12.122	positief advies met opm.	33	07 feb '14	01 jan '16	04 dec '13	16, 15, 33, 17, 41	1	
2013.II.12.123	intentie positief, ambt. mogelijk	36	10 feb '14		04 dec '13	7, 31, 38, 41	1	
2013.II.12.123	positief advies	36	10 feb '14	01 jan '16	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.II.12.124	positief advies met voorw.	31	31 dec '14	01 jan '16	04 dec '13	37	1	
2013.II.12.125	intentie positief, ambt. mogelijk	29	01 okt ‘18		04 dec '13	41		1
2013.II.12.125	positief advies	29	01 okt ‘18	01 jan '16	ambtelijk afgehandeld			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.II.12.126	positief advies met opm.	31	01 nov '14	01 jan '16	04 dec '13	15, 41	1	
2013.II.12.127	positief advies met opm.	29	31 mei '14	01 jan '16	email DEC-leden			1

Overzicht

Kamer III

Anesthesie, Endocrinologie & Voortplanting,

Epidemiologie, Experimentele oncologie,

GDL- bedrijfsvoering, Heelkunde, Orthopedie,

IRAS, Voeding, Onderwijsaanvragen Diergeneeskunde

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2007								
2007.III.03.053	positief voor wijziging	29	01 aug '11	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2007.III.03.053	positief voor wijziging	29	01 aug '11	01 dec '13	proefdierdeskundige			1
2009								
2009.III.02.018	int. voor wijz., ambt. mogelijk	37	01 jul '14	01 jul '14	27 mrt '13	31		1
2009.III.02.018	positief voor wijziging	37	01 jul '14	01 jul '14	ambtelijk afgehandeld			1
2009.III.02.018	positief voor wijziging	37	01 jul '14	01 jul '14	proefdierdeskundige			1
2009.III.02.018	positief voor wijziging	37	01 jul '14	01 jul '14	proefdierdeskundige			1
2010								
2010.III.06.073	positief voor wijziging	36	01 jun '17	01 jul '14	proefdierdeskundige			1
2010.III.07.092	positief voor wijziging	30	onbekend	01 aug '12	proefdierdeskundige			1
2010.III.07.092	positief voor wijziging	30	onbekend	01 jun '13	proefdierdeskundige			1
2010.III.08.102	positief voor wijziging	30	01 okt '11	01 okt '14	proefdierdeskundige		1	
2011								
2011.III.01.003	positief voor wijziging	37	31 dec '13	01 feb '14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.01.003	positief voor wijziging	37	31 dec '13	01 feb '14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.01.008	positief voor wijziging	36	01 sep '13	01 feb '14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.01.012	positief voor wijziging	30	01 mrt '12	01 mei '14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.02.017	positief voor wijziging	36	01 mrt '12	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.02.019	positief voor wijziging	36	01 feb '13	01 apr '13	proefdierdeskundige		1	
2011.III.03.029	positief voor wijziging	33	01 dec '11	01 mrt '13	proefdierdeskundige			1
2011.III.03.029	positief voor wijziging	33	01 dec '11	01 mrt '13	proefdierdeskundige			1
2011.III.04.050	positief voor wijziging	30	01 jun '12	01 mei '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.04.050	positief voor wijziging	30	01 jun '12	01 mei '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.04.050	positief voor wijziging	30	01 jun '12	01 mei '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.04.050	positief voor wijziging	30	01 jun '12	01 mei '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.04.051	positief voor wijziging	30	01 mei '12	01 dec '12	proefdierdeskundige			1
2011.III.06.055	cont. positief advies met opm.	29	onbekend	01 sep '14	27 mrt '13			1
2011.III.06.055	positief advies reeds gegeven	29	onbekend	01 sep '14	24 apr '13			1
2011.III.06.055	positief voor wijziging	29	onbekend	01 sep '14	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2011.III.06.056	int. voor wijz., ambt. mogelijk	3	01 aug '12	01 jul '13	24 apr '13	8, 14		1
2011.III.06.056	positief voor wijziging	3	01 aug '12	01 jul '13	ambtelijk afgehandeld			1
2011.III.06.056	positief voor wijziging	3	01 aug '12	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.06.056	positief voor wijziging	3	01 aug '12	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.06.056	positief voor wijziging	3	01 aug '12	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.06.060	positief voor wijziging	5	01 aug '12	01 aug '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.063	positief voor wijziging	29	onbekend	01 sep '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.063	voorl. cont. positief advies	29	onbekend	01 sep '14	ambtelijk afgehandeld			1
2011.III.07.063	continuering positief advies	29	onbekend	01 sep '14	27 feb '13			1
2011.III.07.063	positief voor wijziging	29	onbekend	01 sep '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.063	positief voor wijziging	29	onbekend	01 sep '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.063	positief voor wijziging	29	onbekend	01 sep '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.063	int. cont. pos. adv., ambt. mog.	29	onbekend	01 sep '14	25 sep '13	41		1
2011.III.07.063	positief voor wijziging	29	onbekend	01 sep '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.063	positief voor wijziging	29	onbekend	01 sep '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.063	positief voor wijziging	29	onbekend	01 sep '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.063	positief voor wijziging	29	onbekend	01 sep '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.063	positief voor wijziging	29	onbekend	01 sep '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.063	positief voor wijziging	29	onbekend	01 sep '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.063	positief voor wijziging	29	onbekend	01 sep '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.063	positief voor wijziging	29	onbekend	01 sep '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	01 aug '12	01 aug '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	01 aug '12	01 aug '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	01 aug '12	01 aug '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	01 aug '12	01 aug '14	27 feb ‘13			1
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	01 aug '12	01 aug '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	01 aug '12	01 aug '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	01 aug '12	01 aug '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	01 aug '12	01 aug '14	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2011.III.07.065	continuering positief advies	29	01 aug '12	01 aug '14	10 jul '13			1
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	01 aug '12	01 aug '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	01 aug '12	01 aug '14	28 aug '13			1
2011.III.07.065	voorl. positief voor wijz.	29	01 aug '12	01 aug '14	25 okt '13			1
2011.III.07.065	positief voor wijziging	29	01 aug '12	01 aug '14	20 nov '13			1
2011.III.07.066	cont. positief advies met vr.	29	01 aug '14	01 aug '14	28 aug '13	31		1
2011.III.07.066	pos. adv. reeds geg. met opm.	29	01 aug '14	01 aug '14	25 sep '13			1
2011.III.07.067	positief voor wijziging	29	01 aug '14	01 aug '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.067	positief voor wijziging	29	01 aug '14	01 aug '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.067	positief voor wijziging	29	01 aug '14	01 aug '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.067	int. cont. pos. adv., ambt. mog.	29	01 aug '14	01 aug '14	19 jun '13	31, 41		1
2011.III.07.067	continering positief advies	29	01 aug '14	01 aug '14	10 jul '13			1
2011.III.07.067	positief voor wijziging	29	01 aug '14	01 aug '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.07.068	int. cont. pos. adv., ambt. mog.	29	01 aug '14	01 aug '14	28 aug '13	31		1
2011.III.07.068	continuering positief advies	29	01 aug '14	01 aug '14	ambtelijk afgehandeld			1
2011.III.07.070	positief voor wijziging	30	01 aug '12	01 aug '14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.08.075	positief voor wijziging		01 aug '12	01 mrt '13	proefdierdeskundige		1	
2011.III.08.080	positief voor wijziging	5	01 sep '12	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2011.III.08.080	positief voor wijziging	5	01 sep '12	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2011.III.08.080	positief voor wijziging	5	01 sep '12	01 okt '14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.09.095	positief voor wijziging	29	onbekend	01 jul '13	proefdierdeskundige			1
2011.III.09.095	positief voor wijziging	29	onbekend	01 jul '13	proefdierdeskundige			1
2011.III.09.100	positief voor wijziging	33	01 aug '13	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	
2011.III.09.100	positief voor wijziging	33	01 aug '13	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	
2011.III.09.101	voorl. cont. positief advies	29	onbekend	01 okt '14	ambtelijk afgehandeld			1
2011.III.09.101	continuering positief advies	29	onbekend	01 okt '14	27 feb '13			1
2011.III.09.101	positief voor wijziging	29	onbekend	01 okt '14	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2011.III.09.101	continuering positief advies	29	01 okt '14	01 okt '14	20 nov '13			1
2011.III.10.103	positief voor wijziging	29	01 apr '12	01 nov '13	proefdierdeskundige			1
2011.III.10.103	continuering positief advies	29	01 apr '12	01 nov '14	25 okt '13			1
2011.III.10.110	positief voor wijziging	30	01 dec '12	01 nov '14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.12.126	positief voor wijziging	37	01 jan '14	01 jan '14	proefdierdeskundige		1	
2011.III.12.127	positief voor wijziging	30	onbekend	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2011.III.12.127	positief voor wijziging	30	onbekend	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2012								
2012.III.01.001	positief voor wijziging	6	11 dec '12	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.01.001	positief voor wijziging	6	11 dec '12	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.01.001	positief voor wijziging	6	11 dec '12	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.01.005	positief voor wijziging	30	01 feb '15	01 feb '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.01.005	positief voor wijziging	30	01 feb '15	01 feb '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.01.005	positief voor wijziging	30	01 feb '15	01 feb '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.01.005	positief voor wijziging	30	01 feb '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.01.006	positief voor wijziging	3	25 jan '13	01 jun '13	proefdierdeskundige			1
2012.III.01.006	positief voor wijziging	3	25 jan '13	01 jun '13	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.013	positief voor wijziging	30	05 mrt '13	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.02.013	positief voor wijziging	30	05 mrt '13	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.02.013	positief voor wijziging	30	05 mrt '13	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.02.013	aangehouden voor wijziging	30	05 mrt '13	01 apr '14	23 okt '13	24, 31	1	
2012.III.02.013	cont. aanh., ambt. mogelijk	30	05 mrt '13	01 apr '14	20 nov '13	4	1	
2012.III.02.013	positief voor wijziging	30	05 mrt '13	01 apr '14	ambtelijk afgehandeld		1	
2012.III.02.013	positief voor wijziging	30	05 mrt '13	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.02.013	positief voor wijziging	30	05 mrt '13	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.02.015	positief voor wijziging	30	01 apr '13	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.02.015	positief voor wijziging	30	01 apr '13	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.02.015	positief voor wijziging	30	01 apr '13	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.02.015	positief voor wijziging	30	01 apr '13	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.02.017	positief voor wijziging	3	01 mrt '13	01 sep '13	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.III.02.017	positief voor wijziging	3	01 mrt '13	01 sep '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.02.017	positief voor wijziging	3	01 mrt '13	01 sep '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	voorl. pos.adv. voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	ambtelijk afgehandeld			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	19 jun '13			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.02.018	positief voor wijziging	30	30 apr '13	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.03.020	positief voor wijziging	37	onbekend	01 jun '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.03.020	positief voor wijziging	37	onbekend	01 jun '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.03.020	positief voor wijziging	37	onbekend	01 jun '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.03.023	positief voor wijziging	33	01 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.023	positief voor wijziging	33	01 apr '13	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.025	positief voor wijziging	30	01 apr '13	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.03.025	positief voor wijziging	30	01 apr '13	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.03.025	positief voor wijziging	30	01 apr '13	01 jan '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.03.025	afgewezen voor wijziging	30	01 apr '13	01 jan '14	24 apr '13	41		1
2012.III.03.027	pos. adv. voor wijz. met vr.	33	01 okt '13	01 mei '13	27 feb ‘13	15	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.III.03.027	positief advies reeds gegeven	33	01 okt '13	01 mei '13	27 mrt '13		1	
2012.III.03.027	positief voor wijziging	33	01 okt '13	01 mei '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb '14	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb '14	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb '14	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb '14	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb '14	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb '14	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb '14	01 apr '14	19 jun '13		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb '14	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb '14	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb '14	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb '14	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb '14	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.028	positief voor wijziging	10	28 feb '14	01 apr '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.029	positief voor wijziging		01 jul '13	01 mei '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.029	positief voor wijziging		01 jul '13	01 mei '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.029	positief voor wijziging		01 jul '13	01 mei '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.029	positief voor wijziging		01 jul '13	01 mei '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.029	positief voor wijziging		01 jul '13	01 mei '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.03.029	positief voor wijziging		01 jul '13	01 mei '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.04.031	positief voor wijziging	30	01 jun '14	01 jun '13	proefdierdeskundige			1
2012.III.04.031	positief voor wijziging	30	01 jun '14	01 dec '13	proefdierdeskundige			1
2012.III.04.031	positief voor wijziging	30	01 jun '14	01 dec '13	proefdierdeskundige			1
2012.III.04.033	positief voor wijziging	5	31 mei '13	01 jun '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.04.033	positief voor wijziging	5	31 mei '13	01 jun '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.04.033	positief voor wijziging	5	31 mei '13	01 jun '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.04.037	continuering aanhouden C1	5	15 jul '13		23 jan '13	14	1	
2012.III.04.037	continuering aanhouden C1	5	15 jul '13		27 mrt '13	14	1	
2012.III.04.037	ingetrokken C1	5	15 jul '13		20 nov '13		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.III.05.041	positief voor wijziging	37	01 jun '15	01 jul '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.043	positief voor wijziging	5	01 jun '14	01 jun '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.043	positief voor wijziging	5	01 jun '14	01 jun '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.044	positief voor wijziging	30	01 apr '13	01 jul '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.05.044	positief voor wijziging	30	01 apr '13	01 jul '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.05.045	positief voor wijziging	26	01 jun '15	01 jun '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.05.045	positief voor wijziging	26	01 jun '15	01 jun '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.05.045	pos. adv. voor wijz. met opm.	26	01 jun '15	01 jun '15	27 feb ‘13	14		1
2012.III.05.045	positief voor wijziging	26	01 jun '15	01 jun '15	27 feb ‘13			1
2012.III.05.045	cont. positief advies met opm.	26	01 jun '15	01 jun '15	19 jun '13			1
2012.III.05.045	positief voor wijziging	26	01 jun '15	01 jun '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.05.047	positief voor wijziging	30	01 jun '13	01 jun '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.047	positief voor wijziging	30	01 jun '13	01 jun '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.05.049	positief voor wijziging	30	01 jun '13	01 jun '13	proefdierdeskundige			1
2012.III.05.049	positief voor wijziging	30	01 jun '13	01 jun '13	proefdierdeskundige			1
2012.III.05.049	positief voor wijziging	30	01 jun '13	01 jun '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.05.050	positief voor wijziging	3	15 jun '13	01 dec '13	proefdierdeskundige			1
2012.III.06.054	positief voor wijziging	29	31 aug '15	01 jul '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.06.054	positief voor wijziging	29	31 aug '15	01 jul '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.06.054	positief voor wijziging	29	31 aug '15	01 jul '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.06.054	positief voor wijziging	29	31 aug '15	01 jul '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.06.054	positief voor wijziging	29	31 aug '15	01 jul '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.06.054	voorl. positief voor wijz.	29	31 aug '15	01 jul '15	ambtelijk afgehandeld			1
2012.III.06.054	positief voor wijziging	29	31 aug '15	01 jul '15	28 aug '13			1
2012.III.06.054	positief voor wijziging	29	31 aug '15	01 jul '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.06.054	continuering positief advies	29	31 aug '15	01 jul '15	28 aug '13			1
2012.III.06.054	positief voor wijziging	29	31 aug '15	01 jul '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.06.054	positief voor wijziging	29	31 aug '15	01 jul '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.06.054	positief voor wijziging	29	31 aug '15	01 jul '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.06.055	positief voor wijziging	29	30 jun '15	01 jul '15	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.III.06.055	continuering positief advies	29	30 jun '15	01 jul '15	28 aug '13			1
2012.III.06.058	aangehouden voor wijziging	29	01 jul '15	01 jul '13	27 mrt '13	14, 31, 33		1
2012.III.06.058	positief voor wijziging	29	01 jul '15	01 jul '13	24 apr '13			1
2012.III.06.058	afgewezen voor terugrap.	29	01 jul '15	01 jul '13	10 jul '13	41		1
2012.III.06.058	positief voor wijziging	29	01 jul '15	01 jul '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.06.058	positief voor wijziging	29	01 jul '15	01 jul '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.06.060	positief voor terugrap.	36	21 dec '12	01 aug '13	23 jan '13		1	
2012.III.07.064	positief voor wijziging	30	31 dec '12	01 aug '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.07.064	positief voor wijziging	30	31 dec '12	01 aug '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.07.064	positief voor wijziging	30	31 dec '12	01 aug '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.07.064	positief voor wijziging	30	31 dec '12	01 jan '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.07.064	positief voor wijziging	30	31 dec '12	01 jan '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.07.064	positief voor wijziging	30	31 dec '12	01 jan '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.07.064	positief voor wijziging	30	31 dec '12	01 jan '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.07.065	positief voor wijziging	12	27 jul '13	01 aug '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.07.070	positief voor wijziging	33	01 jul '13	01 aug '13	proefdierdeskundige			1
2012.III.07.072	positief voor wijziging	3	01 aug '13	01 aug '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.07.072	positief voor wijziging	3	01 aug '13	01 aug '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.073	positief voor terugrap.	9	01 aug '15	01 sep '13	20 nov '13		1	
2012.III.08.076	positief voor wijziging	10	08 aug '13	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.III.08.080	positief voor wijziging	3	onbekend	01 sep '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.080	positief voor wijziging	3	onbekend	01 sep '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.081	positief voor wijziging	30	onbekend	01 sep '13	29 aug '12		1	
2012.III.08.081	positief voor wijziging	30	onbekend	01 sep '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.081	positief voor wijziging	30	onbekend	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.081	positief voor wijziging	30	onbekend	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.081	positief voor wijziging	30	onbekend	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.081	positief voor wijziging	30	onbekend	01 mrt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.083	positief voor wijziging	37	onbekend	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.083	positief voor wijziging	37	onbekend	01 okt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.08.083	positief voor wijziging	37	onbekend	01 okt '14	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.III.08.084	positief voor wijziging	36	30 nov '12	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.III.08.085	positief voor wijziging	3	29 aug '13	01 sep '13	proefdierdeskundige			1
2012.III.08.085	positief voor wijziging	3	29 aug '13	01 sep '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.09.087	positief voor wijziging	11	30 sep '13	01 dec '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.09.088	positief voor wijziging		onbekend	01 okt '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.09.089	positief voor wijziging	30	01 okt '13	01 okt '13	proefdierdeskundige		1	
2012.III.09.093	positief voor wijziging	33	01 nov '13	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.III.09.094	positief voor wijziging	33	01 okt '13	01 okt '13	proefdierdeskundige			1
2012.III.10.097	positief voor wijziging	30	04 nov '14	01 feb '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.10.098	positief voor wijziging	3	01 nov '14	01 nov '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.10.098	positief voor wijziging	3	01 nov '14	01 nov '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.10.098	positief voor wijziging	3	01 nov '14	01 nov '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.10.099	positief voor wijziging	3	01 nov '13	01 nov '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.10.100	positief voor wijziging	33	31 okt '14	31 okt '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.10.102	positief voor wijziging	30	31 okt '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.10.102	positief voor wijziging	30	31 okt '14	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.10.104	positief advies	30	30 nov '14	01 aug '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2012.III.10.104	positief voor wijziging	30	30 nov '14	01 aug '15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.11.105	positief voor wijziging		onbekend	01 dec '15	27 mrt '13			1
2012.III.11.105	positief voor wijziging		onbekend	01 dec '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.11.117	positief voor terugrap.	9	01 nov '15	01 dec '14	20 nov '13		1	
2012.III.11.117	positief voor wijziging	9	01 nov '15	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.11.118	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.11.118	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.11.118	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.11.118	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.11.119	positief voor wijziging	30	31 dec '14	01 dec '14	proefdierdeskundige		1	
2012.III.11.120	positief advies reeds gegeven	37	01 dec '15	01 dec '15	23 jan '13		1	
2012.III.11.123	positief voor wijziging	30	01 dec '13	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.11.123	positief voor wijziging	30	01 dec '14	01 dec '14	proefdierdeskundige			1
2012.III.11.124	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.III.12.125	intentie positief, ambt. mogelijk	22	30 apr '13		23 jan '13	14, 19, 39	1	
2012.III.12.125	positief advies met opm.	22	30 apr '13	01 mrt '15	23 jan '13	14, 17	1	
2012.III.12.125	positief advies reeds gegeven	22	30 apr '13	01 mrt '15	27 feb '13		1	
2012.III.12.127	positief advies reeds gegeven	30	01 dec '13	01 jan '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2012.III.12.127	positief voor wijziging	30	01 dec '13	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.12.127	positief voor wijziging	30	01 dec '13	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.12.127	positief voor wijziging	30	01 dec '13	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.12.127	positief voor wijziging	30	01 dec '13	01 jan '15	proefdierdeskundige		1	
2012.III.12.128	cont. int. pos., ambt. mogelijk	30	01 jan '15		12 dec '12	14, 15, 18, 39		1
2012.III.12.128	positief advies	30	01 jan '15	01 feb '15	ambtelijk afgehandeld			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.128	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.129	positief advies reeds gegeven	33	01 jan '14	01 jan '15	23 jan '13			1
2012.III.12.131	positief advies reeds gegeven	37	31 dec '13	01 jan '15	23 jan '13		1	
2012.III.12.134	positief advies reeds gegeven	33	12 jun '13	01 jan '15	23 jan '13			1
2012.III.12.134	positief voor wijziging	33	12 jun '13	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.134	positief voor terugrap.	33	12 jun '13	01 jan '15	24 apr '13			1
2012.III.12.134	positief voor wijziging	33	12 jun '13	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.135	positief advies	30	07 jan '15	01 mei '15	ambtelijk afgehandeld		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2012.III.12.136	pos.geg. C1, pos. C2 met opm.	33	28 feb '15	1 januari 2015 (C1)	23 jan '13	4, 33		1
2012.III.12.137	continuering vr.	30	01 jan '15	01 jan '15	23 jan '13			1
2012.III.12.137	positief advies reeds gegeven	30	01 jan '15	01 jan '15	27 feb '13			1
2012.III.12.137	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.137	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.137	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.137	positief voor wijziging	30	01 jan '15	01 jan '15	proefdierdeskundige			1
2012.III.12.138	positief advies reeds gegeven	29	01 jun '16	01 jan '15	27 feb ‘13			1
2013								
2013.III.01.001	positief advies met opm.	29	01 nov '15	01 feb '15	23 jan '13	9		1
2013.III.01.001	positief advies reeds gegeven	29	01 nov '15	01 feb '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.III.01.001	positief voor wijziging	29	01 nov '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.01.001	positief voor wijziging	29	01 nov '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.01.001	positief voor wijziging	29	01 nov '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.01.001	positief voor wijziging	29	01 nov '15	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.01.002	positief advies met vr.	36	28 feb '14	01 feb '15	23 jan '13	9	1	
2013.III.01.002	positief advies reeds gegeven	36	28 feb '14	01 feb '15	27 feb '13		1	
2013.III.01.003	positief advies met opm.	33	01 feb '14	01 feb '15	23 jan '13	27, 31		1
2013.III.01.003	positief advies reeds gegeven	33	01 feb '14	01 feb '15	27 feb '13			1
2013.III.01.004	aangehouden	33	01 feb '14		23 jan '13	14, 9, 15, 27, 18	1	
2013.III.01.004	positief advies met vr.	33	01 feb '14	01 mrt '15	27 feb '13	18	1	
2013.III.01.004	positief advies reeds gegeven	33	01 feb '14	01 mrt '15	27 mrt '13		1	
2013.III.01.004	positief advies reeds gegeven	33	01 feb '14	01 mrt '15	24 apr '13		1	
2013.III.01.005	positief advies met vr.	37	30 sep '13	01 feb '15	23 jan '13	9	1	
2013.III.01.005	positief advies reeds gegeven	37	30 sep '13	01 feb '15	10 jul '13		1	
2013.III.01.006	positief advies met opm.	30	03 feb '14	01 feb '15	23 jan '13			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.III.01.007	positief advies	33	01 feb '14	01 feb '15	23 jan '13			1
2013.III.01.008	positief advies met opm.	33	01 feb '14	01 feb '15	23 jan '13	33		1
2013.III.01.008	positief voor wijziging	33	01 feb '14	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.01.008	positief voor terugrap.	33	01 feb '14	01 feb '15	28 aug '13			1
2013.III.01.009	positief advies met opm.	3	01 feb '14	01 feb '15	23 jan '13	18		1
2013.III.01.009	positief voor wijziging	3	01 feb '14	01 feb '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.01.010	intentie positief, ambt. mogelijk	26	31 mei '13		23 jan '13	9, 39	1	
2013.III.01.010	positief advies	26	31 mei '13	01 mrt '15	23 jan '13		1	
2013.III.01.011	intentie positief, ambt. mogelijk		01 jan '16		23 jan '13	33, 3		1
2013.III.01.011	positief advies met voorw.		01 jan '16	01 mrt '16	23 jan '13	37		1
2013.III.01.012	positief advies met vr. en voorw.	29	31 dec '13	01 feb '16	23 jan '13	27, 33, 37	1	
2013.III.01.012	positief voor wijziging	29	31 dec '13	01 feb '16	22 mei '13		1	
2013.III.01.012	positief voor wijziging	29	31 dec '13	01 feb '16	28 aug '13		1	
2013.III.01.012	positief voor wijziging	29	31 dec '13	01 feb '16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.01.012	int. voor wijz., ambt. mogelijk	29	31 dec '13	01 feb '16	11 dec '13	41	1	
2013.III.01.012	positief voor wijziging	29	31 dec '13	01 feb '16	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.III.02.013	positief advies met vr. en opm.	12	31 jul '13	01 mrt '15	27 feb '13	27, 9, 26, 28, 4		1
2013.III.02.013	positief advies reeds gegeven	12	31 jul '13	01 mrt '15	27 mrt '13			1
2013.III.02.013	positief advies reeds gegeven	12	31 jul '13	01 mrt '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.02.013	positief voor wijziging	12	31 jul '13	01 mrt '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.02.014	positief advies met vr.	35	31 dec '13	01 mrt '15	27 feb '13	39	1	
2013.III.02.014	continuering vr.	35	31 dec '13	01 mrt '15	27 mrt '13	39	1	
2013.III.02.014	positief advies reeds gegeven	35	31 dec '13	01 mrt '15	22 apr '13		1	
2013.III.02.015	aangehouden	36	31 mrt '15		27 feb '13	7, 8, 14, 18, 15	1	
2013.III.02.015	positief advies met opm.	36	31 mrt '15	01 apr '15	27 mrt '13		1	
2013.III.02.015	positief advies reeds gegeven	36	31 mrt '15	01 apr '15	27 mrt '13		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.III.02.016	positief advies	33	04 mrt '14	01 mrt '15	27 feb '13		1	
2013.III.02.017	intentie positief, ambt. mogelijk	12	01 mrt '14		27 feb '13	14		1
2013.III.02.017	cont. int. pos., ambt. mogelijk	12	01 mrt '14		24 apr '13	31, 9		1
2013.III.02.017	positief advies	12	01 mrt '14	01 jun '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.III.02.017	positief voor wijziging	12	01 mrt '14	01 jun '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.02.017	positief voor wijziging	12	01 mrt '14	01 jun '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.02.017	positief voor wijziging	12	01 mrt '14	01 jun '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.02.017	positief voor wijziging	12	01 mrt '14	01 jun '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.02.018	intentie positief, ambt. mogelijk	33	15 dec '13		27 feb '13	1, 39, 9, 15	1	
2013.III.02.018	positief advies met voorw.	33	15 dec '13	01 apr '15	27 feb '13	3	1	
2013.III.02.018	positief voor wijziging	33	15 dec '13	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.02.018	positief voor wijziging	33	15 dec '13	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.02.019	intentie positief, ambt. mogelijk	12	31 dec '13		27 feb '13	8, 14		1
2013.III.02.019	positief advies	12	31 dec '13	01 apr '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.III.02.020	aangehouden	30	31 dec '14		27 feb '13	14, 31, 15, 18, 33	1	
2013.III.02.020	int., ambt. mog. C1 + aanh. C2	30	31 dec '14		27 mrt '13	14, 31	1	
2013.III.02.020	positief advies C1, aanh. C2	30	31 dec '14	01 aug '15	ambtelijk afgehandeld	37	1	
2013.III.03.021	positief advies met vr.	37	31 mei '13	01 apr '15	27 mrt '13	14, 31	1	
2013.III.03.021	positief advies reeds gegeven	37	31 mei '13	01 apr '15	24 apr '13		1	
2013.III.03.022	pos. adv. met opm. en voorw.	29	01 mei '14	01 apr '15	27 mrt '13	27, 15, 4		1
2013.III.03.022	positief advies reeds gegeven	29	01 mei '14	01 apr '15	24 apr '13			1
2013.III.03.022	positief voor wijziging	29	01 mei '14	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.03.022	positief voor wijziging	29	01 mei '14	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.03.023	positief advies met opm.	12	31 dec '13	01 apr '15	27 mrt '13	33	1	
2013.III.03.023	positief voor wijziging	12	31 dec '13	01 apr '15	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.III.03.024	aangehouden	3	13 mrt '15		27 mrt '13	14, 39, 31, 38, 33, 17	1	
2013.III.03.024	int. pos., ambt. mog. + aanh.	3	13 mrt '15		24 apr '13	31, 14, 7	1	
2013.III.03.024	positief advies	3	13 mrt '15	01 jul '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.III.03.024	int. voor wijz., ambt. mogelijk	3	13 mrt '15	01 jul '15	23 okt '13	31	1	
2013.III.03.024	positief voor wijziging	3	13 mrt '15	01 jul '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.III.03.025	intentie positief, ambt. mogelijk	36	31 aug '13		27 mrt '13	14, 17, 33, 18	1	
2013.III.03.025	positief advies	36	31 aug '13	01 mei '13	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.III.03.025	positief voor wijziging	36	31 aug '13	01 mei '13	proefdierdeskundige		1	
2013.III.03.026	positief advies met opm. en vr.	30	01 mrt '15	01 apr '15	27 mrt '13	41, 9		1
2013.III.03.026	positief advies reeds gegeven	30	01 mrt '15	01 apr '15	24 apr '13			1
2013.III.03.026	positief voor wijziging	30	01 mrt '15	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.03.026	positief voor wijziging	30	01 mrt '15	01 apr '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.03.027	positief advies		onbekend	01 apr '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.III.03.028	positief advies		onbekend	01 apr '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.III.03.029	positief advies met opm.	12	15 mei '14	01 mei '13	24 apr '13	9, 41		1
2013.III.03.029	positief advies reeds gegeven	12	15 mei '14	01 mei '13	ambtelijk afgehandeld			1
2013.III.03.030	aangehouden	30	30 apr '14		24 apr '13	19, 14, 39, 42	1	
2013.III.03.030	positief advies met vr. en voorw.	30	30 apr '14	01 jun '15	22 mei '13	26, 14	1	
2013.III.03.030	continuering vr.	30	30 apr '14	01 jun '15	19 jun '13	26, 14	1	
2013.III.03.030	pos. adv. reeds geg. met voorw.	30	30 apr '14	01 jun '15	10 jul '13	4	1	
2013.III.03.030	positief voor wijziging	30	30 apr '14	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.03.031	positief advies met vr.	37	15 mei '16	01 mei '15	24 apr '13	14, 9	1	
2013.III.03.031	positief advies reeds gegeven	37	15 mei '16	01 mei '15	19 jun '13		1	
2013.III.03.032	positief advies met vr. en opm.	33	30 jun '13	01 mei '13	24 apr '13	14, 9		1
2013.III.03.032	positief advies reeds gegeven	33	30 jun '13	01 mei '13	22 mei '13			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.III.03.033	positief advies met vr. en opm.	36	16 jun '14	01 mei '13	24 apr '13	14, 41,33	1	
2013.III.03.033	continuering vr.	36	16 jun '14	01 mei '13	22 mei '13	15	1	
2013.III.03.033	positief advies reeds gegeven	36	16 jun '14	01 mei '13	19 jun '13		1	
2013.III.03.033	positief voor wijziging	36	16 jun '14	01 mei '13	proefdierdeskundige		1	
2013.III.04.034	aangehouden	30	30 apr '14		24 apr '13	14, 39, 15, 42	1	
2013.III.04.034	intentie positief, ambt. mogelijk	30	30 apr '14		22 mei '13	31, 33	1	
2013.III.04.034	positief advies met opm.	30	30 apr '14	01 jun '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.III.04.034	positief voor wijziging	30	30 apr '14	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.04.034	positief voor wijziging	30	30 apr '14	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.04.035	intentie positief, ambt. mogelijk	33	01 mei '14	39,33,31,15	24 apr '13	39, 33, 31, 15	1	
2013.III.04.035	positief advies	33	01 mei '14	01 aug '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.III.04.036	aangehouden	33	01 jan '14		24 apr '13	14, 31	1	
2013.III.04.036	positief advies	33	01 jan '14	01 jun '15	22 mei '13		1	
2013.III.04.036	positief voor wijziging	33	01 jan '14	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.04.036	positief voor wijziging	33	01 jan '14	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.04.036	positief voor wijziging	33	01 jan '14	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.04.037	positief advies met opm.	4	01 sep '13	01 mei '13	24 apr '13	39, 31, 33		1
2013.III.04.037	positief advies reeds gegeven	4	01 sep '13	01 mei '13	19 jun '13			1
2013.III.04.037	positief voor wijziging	4	01 sep '13	01 mei '13	20 nov '13			1
2013.III.04.038	positief advies met opm.	12	01 mei '14	01 mei '13	24 apr '13	37		1
2013.III.04.038	positief voor wijziging	12	01 mei '14	01 mei '13	proefdierdeskundige			1
2013.III.04.038	pos. adv. voor terugrap. met vr.	12	01 mei '14	01 mei '13	23 okt '13	9		1
2013.III.04.038	positief advies reeds gegeven	12	01 mei '14	01 mei '13	20 nov '13			1
2013.III.05.039	positief advies met opm.	3	22 apr '15	01 jun '15	22 mei '13	10	1	
2013.III.05.039	positief voor wijziging	3	22 apr '15	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.05.039	positief advies reeds gegeven	3	22 apr '15	01 jun '15	10 jul '13		1	
2013.III.05.039	positief voor wijziging	3	22 apr '15	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.III.05.039	positief voor terugrap.	3	22 apr '15	01 jun '15	28 aug '13		1	
2013.III.05.040	aangehouden	37	30 jul '13		22 mei '13	7, 14, 15, 31	1	
2013.III.05.040	intentie positief, ambt. mogelijk	37	30 jul '13		12 jun '13	14	1	
2013.III.05.040	positief advies	37	30 jul '13	01 aug '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.III.05.040	positief voor wijziging	37	30 jul '13	01 aug '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.05.041	positief advies met vr.	36	23 jun '13	01 jun '15	22 mei '13	39, 33, 7	1	
2013.III.05.041	positief voor wijziging	36	23 jun '13	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.05.041	positief advies reeds gegeven	36	23 jun '13	01 jun '15	19 jun '13		1	
2013.III.05.041	positief voor wijziging	36	23 jun '13	01 jun '15	19 jun '13		1	
2013.III.05.041	positief voor wijziging	36	23 jun '13	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.05.041	positief voor wijziging	36	23 jun '13	01 jun '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.05.042	positief advies met opm.	33	01 jul '14	01 jun '15	22 mei '13	7		1
2013.III.05.042	positief advies reeds gegeven	33	01 jul '14	01 jun '15	10 jul '13			1
2013.III.06.043	aangehouden	33	01 apr '14		19 jun '13	3, 8, 14, 31, 33, 39		1
2013.III.06.043	cont. aanh., ambt. mogelijk	33	01 apr '14		10 jul '13			1
2013.III.06.043	positief advies	33	01 apr '14	01 sep '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.III.06.043	positief voor wijziging	33	01 apr '14	01 sep '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.06.044	aangehouden	11	31 dec '13		19 jun '13	7, 8		1
2013.III.06.044	cont. aanhouden	11	31 dec '13		31 jul '13	8, 14		1
2013.III.06.045	pos. adv. met opm. en voorw.	37	30 jun '14	01 jul '15	19 jun '13	39, 17		1
2013.III.06.045	positief advies reeds gegeven	37	30 jun '14	01 jul '15	28 aug '13			1
2013.III.06.046	intentie positief, ambt. mogelijk	33	01 jun '14		19 jun '13	39, 40, 14, 15, 27, 26, 7	1	
2013.III.06.046	positief advies met voorw.	33	01 jun '14	01 aug '15	19 jun '13	37, 4	1	
2013.III.06.046	positief voor wijziging	33	01 jun '14	01 aug '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.06.046	positief voor wijziging	33	01 jun '14	01 aug '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.06.047	intentie positief, ambt. mogelijk	33	01 jun '14		19 jun '13	39, 40, 14, 15, 27, 26, 7, 10	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.III.06.047	positief advies met voorw.	33	01 jun '14	01 aug '15	19 jun '13	37, 4	1	
2013.III.06.047	positief voor wijziging	33	01 jun '14	01 aug '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.06.047	positief voor wijziging	33	01 jun '14	01 aug '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.06.047	positief voor wijziging	33	01 jun '14	01 aug '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.06.048	aangehouden	33	01 aug '14		19 jun '13	7, 8, 14, 15		1
2013.III.06.048	cont. aanh., ambt. mogelijk	33	01 aug '14		10 jul '13	14, 9		1
2013.III.06.048	positief advies	33	01 aug '14	01 sep '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.III.06.048	positief voor wijziging	33	01 aug '14	01 sep '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.07.049	positief advies met vr. en opm.		onbekend	01 aug '15	10 jul '13	39, 31, 9	1	
2013.III.07.049	positief advies reeds gegeven		onbekend	01 aug '15	28 aug '13		1	
2013.III.07.050	positief advies met vr. en opm.	13	31 dec '13	01 aug '15	10 jul '13	14, 39, 16, 15	1	
2013.III.07.050	positief advies reeds gegeven	13	31 dec '13	01 aug '15	28 aug '13		1	
2013.III.07.050	positief voor wijziging	13	31 dec '13	01 aug '15	28 aug '13		1	
2013.III.07.051	positief advies met vr. en opm.	12	01 jan '14	01 aug '15	10 jul '13	9, 15	1	
2013.III.07.051	positief advies reeds gegeven	12	01 jan '14	01 aug '15	28 aug '13		1	
2013.III.07.051	positief voor wijziging	12	01 jan '14	01 aug '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.07.051	positief voor wijziging	12	01 jan '14	01 aug '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.07.051	positief voor wijziging	12	01 jan '14	01 aug '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.07.052	intentie positief, ambt. mogelijk		01 aug '16		10 jul '13	31, 7, 14		1
2013.III.07.052	positief advies		01 aug '16	01 jan '17	ambtelijk afgehandeld			1
2013.III.07.053	positief voor wijziging		25 jan '17	01 aug '15	ambtelijk afgehandeld			
2013.III.08.054	aangehouden	37	01 jul '14		28 aug '13	3, 9, 14	1	
2013.III.08.054	positief advies met opm.	37	01 jul '14	01 okt '15	25 sep '13		1	
2013.III.08.055	aangehouden, ambt. mogelijk	29	31 aug '15		28 aug '13	3, 27	1	
2013.III.08.055	positief advies	29	31 aug '15	01 okt '15	ambtelijk afgehandeld	8	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.III.08.056	positief advies met voorw.	30	31 dec '14	01 sep '16	28 aug '13	37		1
2013.III.08.057	aangehouden	8	01 feb '14		28 aug '13	39, 9, 31, 33, 15, 14	1	
2013.III.08.058	positief advies met vr.	37	28 nov '14	01 sep '15	28 aug '13	15		1
2013.III.08.059	positief advies met vr.	37	29 aug '14	01 sep '15	28 aug '13	15		1
2013.III.08.060	positief advies met opm.	33	01 mrt '15	01 sep '15	28 aug '13	3,41	1	
2013.III.08.060	positief advies reeds gegeven	33	01 mrt '15	01 sep '15	23 okt '13		1	
2013.III.08.061	positief advies met opm.	30	01 sep '15	01 sep '15	28 aug '13	16, 9		1
2013.III.08.061	positief advies reeds gegeven	30	01 sep '15	01 sep '15	25 sep '13			1
2013.III.08.061	positief voor wijziging	30	01 sep '15	01 sep '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.08.061	positief voor wijziging	30	01 sep '15	01 sep '15	proefdierdeskundige			1
2013.III.09.062	pos. adv. met opm. en voorw.	29	06 okt '14	01 okt '14	25 sep '13			1
2013.III.09.062	positief advies reeds gegeven	29	06 okt '14	01 okt '14	23 okt '13			1
2013.III.09.062	positief voor wijziging	29	06 okt '14	01 okt '14	23 okt '13			1
2013.III.09.063	positief advies met vr. en opm.	12	31 dec '13	01 okt '15	25 sep '13	39, 33, 18		1
2013.III.09.063	positief advies reeds gegeven	12	31 dec '13	01 okt '15	23 okt '13			1
2013.III.09.064	intentie positief, ambt. mogelijk	37	30 sep '14		25 sep '13	9, 16		1
2013.III.09.064	positief advies	37	30 sep '14	01 nov '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.III.09.065	intentie positief, ambt. mogelijk	33	04 nov '14		25 sep '13	33, 31, 9	1	
2013.III.09.065	positief advies	33	04 nov '14	01 nov '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.III.09.066	intentie positief, ambt. mogelijk	30	01 okt '15		25 sep '13	16, 9, 31	1	
2013.III.09.066	positief advies	30	01 okt '15	01 nov '15	16 okt '13		1	
2013.III.09.067	intentie positief, ambt. mogelijk	30	01 okt '14		25 sep '13	27, 16, 33, 31		1
2013.III.09.067	positief advies	30	01 okt '14	01 nov '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.III.09.067	positief voor wijziging	30	01 okt '14	01 nov '15	proefdierdeskundige			1

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.III.09.068	aangehouden, ambt. mogelijk	33	03 jun '14		25 sep '13	14, 7, 28, 39	1	
2013.III.09.068	positief advies	33	03 jun '14	01 nov '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.III.10.069	intentie positief, ambt. mogelijk	33	onbekend		23 okt '13	14, 9, 27, 15	1	
2013.III.10.069	positief advies	33	onbekend	01 dec '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.III.10.069	positief voor wijziging	33	onbekend	01 dec '15	proefdierdeskundige		1	
2013.III.10.070	aangehouden	8	02 nov '14		23 okt '13	9, 7, 15, 33	1	
2013.III.10.070	positief advies	8	02 nov '14	01 dec '15	20 nov '13		1	
2013.III.10.071	intentie positief, ambt. mogelijk	27	06 nov '14		23 okt '13	9, 14	1	
2013.III.10.071	positief advies	27	06 nov '14	01 dec '15	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.III.10.072	intentie positief, ambt. mogelijk	30	30 sep '14		23 okt '13	15, 18, 37		1
2013.III.10.072	positief advies	30	30 sep '14	01 dec '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.III.10.073	intentie positief, ambt. mogelijk	37	01 sep '15		23 okt '13	39, 31, 33		1
2013.III.10.073	positief advies	37	01 sep '15	01 dec '15	ambtelijk afgehandeld			1
2013.III.11.074	aangehouden	12	01 dec '15		20 nov '13	9, 31, 14, 28	1	
2013.III.11.074	positief advies met vr.	12	01 dec '15		11 dec '13	14	1	
2013.III.11.075	aangehouden	37	28 jan '14		20 nov '13	9, 39, 14, 15, 18, 31	1	
2013.III.11.076	vervallen							
2013.III.11.077	positief advies met opm.	33	22 jan '14	01 dec '15	20 nov '13	14, 31, 17		1
2013.III.11.077	positief advies reeds gegeven	33	22 jan '14	01 dec '15	11 dec '13			1
2013.III.11.078	positief advies	33	30 nov '15	01 dec '15	20 nov '13		1	
2013.III.11.079	aangehouden	33	01 dec '15		20 nov '13	9, 39, 31, 14, 27	1	
2013.III.11.080	positief advies met vr.	30	01 dec '15	01 dec '15	20 nov '13	9		1
2013.III.11.081	intentie positief, ambt. mogelijk	33	01 dec '15		20 nov '13	9, 14, 31, 15	1	
2013.III.11.081	positief advies	33	01 dec '15	01 jan '16	ambtelijk afgehandeld		1	
2013.III.11.082	positief advies met opm.	9	01 dec '14	01 dec '15	20 nov '13	16, 33	1	
2013.III.11.083	positief advies met opm.	12	01 nov '15	01 dec '15	20 nov '13	37		1
2013.III.11.084	positief advies met opm.	29	02 dec '13	01 dec '16	20 nov '13	4, 33	1	

DEC nummer	advies	doel	duur v/d proef	geldigheid	bespreking	voorw./ opmerking	nieuw	vervolg/ herhaald
2013.III.11.084	positief advies reeds gegeven	29	02 dec '13	01 dec '16	11 dec '13		1	
2013.III.11.084	positief voor wijziging	29	02 dec '13	01 dec '16	proefdierdeskundige		1	
2013.III.11.085	intentie positief, ambt. mogelijk	3	30 nov '14		20 nov '13	15, 27, 9		1
2013.III.11.085	positief advies	3	30 nov '14	01 jan '16	ambtelijk afgehandeld			1
2013.III.12.086	aangehouden	37	onbekend		11 dec '13	14, 15, 21, 31, 41, 16, 33	1	
2013.III.12.087	positief advies met opm.	27	04 jul '14	01 jan '16	11 dec '13	15	1	
2013.III.12.088	positief advies met opm.	36	niet ingevuld	01 jan '16	11 dec '13	39, 14, 41, 37	1	
2013.III.12.089	positief advies met voorw.	37	01 feb '17	01 jan '17	11 dec '13	37		1
2013.III.12.090	positief advies met opm.	12	01 feb '16	01 jan '16	11 dec '13	8, 10, 31, 33, 18	1	
2013.III.12.091	positief advies met vr. en opm.	37	01 feb '15	01 jan '16	11 dec '13	7, 33		
2013.III.12.092	positief advies met vr.	14	17 feb '14	01 jan '16	11 dec '13	27, 41	1	
2013.III.12.093	positief advies met vr.	37	12 apr '14	01 jan '16	11 dec '13	14, 37, 27		1
2013.III.12.094	positief advies met vr. en opm.	30	31 dec '15	01 jan '16	11 dec '13	27, 14		1

Jaarverslag 2013
Dierexperimentencommissie Utrecht

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

UMC Utrecht

Universiteit Utrecht